

**Untersuchungen über die Bedeutung
benetzbarer Oberflächen für die Adhäsivitäts-
und Agglomerationsneigung
der Thrombocyten**

Peter Mücke

1962.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik
Frankfurt am Main
Direktor: Prof. Frey

Untersuchungen über die Bedeutung benetzbarer
Oberflächen für die Adhäsivitäts-und Agglome-
rationsneigung der Thrombocyten.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Peter Mücke
aus Breslau
1961



Dekan: Prof.Dr.med.W.Krücke
Referent: Prof.Dr.med.J.Jürgens
Korreferent: Prof.Dr.med.W.Rotter
Mündliche Prüfung: 13.12.1962

I n h a l t s a n g a b e

Einleitung und Problemstellung.....

A) A l l g e m e i n e r T e i l

I. Beginn der spontanen Hämostase.....

1. Das "extrinsic"-Gerinnungssystem.....

2. Das "intrinsic"-Gerinnungssystem.....

II. Veränderungen der Plättchen während der Hämostase.....

1. Plättchenadhäsivität.....

2. Agglomeration.....

3. Die Mikrogerinnung auf der "periplaquettären Hülle".....

4. Die Desintegration - Viscöse Metamorphose der Plättchen.....

5. Die Thrombocytenfaktoren.....

B) S p e z i e l l e r T e i l

I. Die Hagemann Mangelerkrankung.....

II. Die Natur des Hagemann Faktors.....

III. Eigene Experimente mit dem Hagemann Faktor.....

1. Die Rolle des Hagemann Faktors bei der Plättchenadhäsivität..

a. Die langsame Inaktivierung des Hagemann Faktors

b. Ein möglicher Inhibitor gegen den aktiven Hagemann Faktor....

c. Vergleich der Hagemann-Inaktivierung mit einem ähnlichen Mechanismus in der Blutgerinnung.....

d. Der Einfluß des Heparins auf die Aktivität des Hagemann Faktors.....

2. Die Rolle des Hagemann Faktors bei der Plättchenagglutination

3. Ein möglicher Hagemann Faktor-Mangel bei hereditären Thrombopathien.....

C) Z u s a m m e n f a s s u n g

Literaturangaben.....



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung und Problemstellung

Im Jahre 1905 hat M o r a w i t z die Forschungsergebnisse über die Blutgerinnungslehre zusammengefaßt und ein Schema entwickelt, das uns heute als das sogenannte "klassische Gerinnungsschema" bekannt ist. Es besagt, daß ein Eiweißkörper des Plasmas, das Prothrombin, zusammen mit Ca-Ionen durch das Ferment Thrombokinase zu Thrombin aktiviert wird. Dieses Thrombin wirkt auf einen löslichen Plasmafaktor ein, das Fibrinogen und wandelt ihn in die unlösliche Verbindung Fibrin um. Die Thrombokinase, im angloamerikanischen Sprachgebrauch als Thromboplastin bezeichnet, sollte beim Zerfall der Thrombocyten an benetzten Oberflächen aus den Plättchen in Freiheit gesetzt werden. - Dieses Grundschema der Blutgerinnungslehre ist heute noch voll gültig, wenn auch in der Zwischenzeit eine Fülle neuer Gerinnungsfaktoren entdeckt wurden, die den Ablauf der Blutkoagulation zu einem sehr komplizierten Geschehen machen. Nicht zuletzt auch dadurch, daß die unterschiedliche Nomenklatur dieser Faktoren in der Literatur das Verständnis allgemein erschwert. Schon Morawitz teilte den Gerinnungsablauf in Phasen ein und bezeichnete so die Thrombinbildung als erste, die Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung als zweite Phase. Dieses Einteilungsprinzip hat sich besonders in der Differentialdiagnose der Gerinnungsstörungen bewährt. Es ist noch heute in Gebrauch und wurde lediglich erweitert. So kam eine Vorphase hinzu, in der aus verschiedenen Blutfaktoren die Blutthrombokinase oder das Blutthromboplastin gebildet wird. Neben dem Blutthromboplastin beteiligt sich aber auch noch ein zweites Koagulationssystem an der Thrombinbildung, die Gewebsthrombokinase, die beim Zellzerfall im Gewebe frei wird. So greift also ein "extrinsic"-System, wenn Gewebsflüssigkeit in das Blut gelangt und ein "intrinsic"-System, das die Blutfaktoren umfaßt, in den Gerinnungsmechanismus ein. Im Anschluß an die zweite Phase schließt sich dann die Retrahierung des Fibringerinsels an. In dieser dritten Phase verfestigt sich das Gerinsel und Serum wird aus seinen Maschen ausgepresst. Als vierte und letzte Phase der Koagulation bezeichnet man dann die Wiederauflösung des Koagulums, die Fibrinolyse.

Von diesen vier Gerinnungsphasen ist die Vorphase, in der die Thrombocyten eine so entscheidende Rolle spielen, eigentlich noch recht wenig erforscht. Der Mechanismus des Plättchenzerfalls ist

überhaupt noch nicht richtig geklärt. Man glaubte bisher allgemein daß die Plättchen beim Berühren einer benetzbaren Oberfläche in Anwesenheit von Ca zerfallen. Einige Autoren waren der Meinung, das Phänomen der "Viscösen Metamorphose", also die Reihe der morphologischen Veränderungen der Plättchen, die während der Gerinnung bis zu ihrer völligen Desintegration führt, sei ein sekundärer Vorgang und der Umwandlung geringer Mengen Fibrinogen in Fibrin zuzuschreiben. B e r g s a g e l vertrat die Meinung, daß die Kombination von Christmas Faktor, Antihämophilem Globulin und Ca für die Plättchenagglutination verantwortlich sei. Die jetzt allgemein bestehende Auffassung ist wohl die, daß die "Viscöse Metamorphose der Plättchen" durch Thrombin ausgelöst wird. Geringe Spuren von Thrombin führen sofort zur Mikrogerinnung der periplaquettären Hülle der Thrombocyten, zur Agglomeration und zur "Viscösen Metamorphose".

In dieser Arbeit soll der Versuch gemacht werden, den Vorgang dieser initialen Thrombinbildung beim Beginn der Hämostase weiter aufzuklären, der für das Zustandekommen der Plättchenadhäsivität und Agglomeration eine wesentliche Rolle zu spielen scheint. Wir gehen dabei von der Vermutung aus, daß Oberflächenphänomene wesentlich bei diesen Vorgängen mitbeteiligt sind, ja daß die Anwesenheit einer benetzbaren Oberfläche überhaupt erst den außerordentlich differenzierten Mechanismus einleitet, der, in Abwesenheit von Gewebsthrombokinasen, zur spontanen Hämostase führt. Daß der Kontakt mit fremden Oberflächen die Gerinnung des Blutes beschleunigt, weiß man schon beinahe 100 Jahre lang. B i z z o z e r o hat schon 1882 eine Plättchenadhäsivität an einem Faden beobachten können, den er einem lebenden Tier in die Ader eingeführt hatte. (6). Auch L a k e r (36) machte 1886 schon Oberflächenuntersuchungen und kam zu dem Ergebnis, daß der Plasmakontakt mit der fremden Oberfläche die Gerinnung einleitete. Dazu berichtet im gleichen Jahre F r e u n d (25), daß in einem Behälter, der mit Vaseline oder Paraffin überzogen wurde, die Gerinnung wesentlich langsamer zustandekam als in einem normalen Gefäß. Das Gleiche beobachteten 1930 B o r d e t und G e n g o u (8) von einer paraffinierten, und H i r s c h b o e c k (28) von einer Kollodiumoberfläche. Heute ist es möglich, mit modernen Methoden die Vorgänge der Blutgerinnung zu untersuchen und auch den Einfluß der Oberflächenwirkung auf die verschiedenen Blutge-

rinnungsfaktoren zu bestimmen. So wurde erst in den letzten Jahren die vielfältige Wirkung des Glases auf die Gerinnungsvorgänge bekannt. T o c a n t i n s (65), (66), (67) zeigte das Abnehmen von Anticephalin, eines Lipoid-Antithrombins nach Glaskontakt, F i a l a (20), (21), (22) das Abnehmen eines Proteininhibitors. L e n g e n h a g g e r (37) stellte eine Aktivitätssteigerung des Blutthromboplastins nach Kontakt mit einer benetzbaren Oberfläche fest. Q u i c k und E p s t e i n (49) C o n l e y und H a r t m a n n und ihre Mitarbeiter (13), (55) (27) konnten schließlich eindeutig die Glasaktivierung einer Plasmathromboplastinvorstufe beweisen, auf die vorher auch schon L o z n e r, T a y l o r und M c D o n a l d (40) hingewiesen hatten. Die Untersuchungen von B i g g s, D o u g l a s und M a c f a r l a n e (3) ergaben dann schließlich, daß es sich bei der Plasmathromboplastin-Vorstufe um den Faktor IX, den Christmas Faktor, handelte. In größerem Umfang berichteten darüber auch R a p a p o r t, A a s und O w r e n (52), (5) und gaben neben der Glasaktivierung des Faktors IX die gleiche Aktivitätssteigerung auch beim Prokonvertin bekannt.

Neben diesen beiden Faktoren gehören dann schließlich noch der PTA- und der Hagemann Faktor zu den durch Oberflächen aktivierbaren Gerinnungsfaktoren. In einem späteren Teil der Arbeit kommen wir eingehender auf diese beiden Gerinnungsfaktoren zu sprechen. Wir halten dabei den Hagemann Faktor für das *primum movens* bei der durch Ausflocken bewirkten Auslösung der spontanen Hämostase. Der Hagemann Faktor wird dabei durch die benetzbare Oberfläche direkt aktiviert ohne hierbei Ca zu benötigen und löst in der periplaquetären Hülle die initiale Thrombinbildung aus, die zur Adhäsivitätssteigerung, zur Agglomeration der Plättchen und schließlich zu ihrer "Viscösen Metamorphose" führt.

Ehe wir die einzelnen Experimente schildern, die den Einfluß des Hagemann Faktors auf die Thrombocyten am Beginn der Blutstillung in Abwesenheit von Gewebsthrombokinasen deutlich machen, wollen wir die einzelnen Vorgänge am Beginn der Hämostase schildern, um die verwirrende Fülle der Gerinnungsfaktoren, von denen schon einige genannt wurden, zu ordnen und verständlich zu machen.

A) A l l g e m e i n e r T e i l

I. Beginn der spontanen Hämostase

Die in der Einleitung erwähnte einfache Darstellung des Gerinnungsmechanismus von M o r a w i t z reichte in der Folgezeit für die Klinik nicht mehr aus. Bei der Hämophilie zum Beispiel mußten wohl Mangelzustände anderer Faktoren vorliegen, die Morawitz noch nicht bekannt waren. Den dauernden Bemühungen der Klinik um die Pathogenese der Hämophilien ist es schließlich zu danken, daß die Gerinnungskonzeption von Morawitz eine Erweiterung erfuhr. So wurde die Herkunft der Blutthrombokinasen ermittelt. Morawitz kannte nur eine Gewebsthrombokinasen. - Nach der klassischen Gerinnungslehre enthielten die meisten Gewebszellen einen Aktivator des Prothrombins. Er ist für die gerinnungsbeschleunigende Kraft des Gewebssaftes verantwortlich. Aber wenn sorgfältig, ohne Beimischung von Gewebssaft, gearbeitet wurde, gerann das Blut auch, es mußte also ebenfalls, wenn auch in masierter Form, Thrombokinasen ohne Gewebe entstehen können. Als ihre Quelle wurden die Thrombocyten angesehen, von denen man glaubte, daß sie nach Kontakt mit benetzbaren Oberflächen leicht zerfallen und dabei die Thrombokinasen frei geben. Das konnte aber nicht zutreffen, da sich erstens die Plättchen gar nicht so kontaktilabil zeigten, wie man glaubte und zweitens nach sorgfältiger Isolierung von anderen Blutzellen nicht die geringste Menge eines Stoffes enthielten, der, ohne andere Plasmafaktoren Prothrombin aktivieren konnte. Erst in den letzten Jahren setzte sich die Erkenntnis durch, daß die Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin von zwei Thrombokinasen ausgelöst wird, eine in den Gewebszellen vorliegende und eine ausschließlich aus Blutelementen entstehende Blutthrombokinasen. Hieraus ergaben sich also zwei thromboplastische Systeme: ein "extrinsic"- und ein "intrinsic"-System.

1. Das "extrinsic"-Gerinnungssystem:

Die koagulationsfördernde Wirkung von Gewebeextrakt wurde schon vor über 100 Jahren von B l a i n v i l l e 1834 (44) nachgewiesen. Von M o r a w i t z wurde dann 1903 der Name Thrombokinasen als Bezeichnung für das koagulationsaktive Prinzip in wässriger

gen Gewebeextrakten eingeführt. Der Name Thromboplastin stammt von H o w e l l (30), er definierte diesen Stoff als eine gerinnungsaktive Substanz, die aus verschiedenen Geweben extrahiert werden kann. Seit dieser Zeit werden Thromboplastin und Thrombo - kinase als synonyme Begriffe in der Literatur verwendet. Diese wässrigen Gewebeextrakte bestehen nach H o w e l l (30), C h a r g r a f und Mitarb. (12) und F e i s s l y 1945 (18) aus einem Lipoidanteil, der an ein Protein gebunden ist. In solchen gerinnungsaktiven Lipoidfraktionen ist reichlich Kephalin gefunden worden, aber man weiß heute noch nicht sicher, ob die Gerinnungsaktivität dieser Gewebeextrakte tatsächlich vom Kephalin verursacht wird. Jedenfalls liegt die Gewebsthrombokinase in dieser Art in den Zellen vor; zu ihrer vollen Aktivität braucht sie jedoch noch eine Reihe von Faktoren. F l y n n und C o o n (23), B i g g s, D o u g l a s s, und M a c f a r l a n e (4) besonders aber H j o r t (29) wiesen nach, daß die Gewebsthrombokinase, wie auch die Blutthrombokinase tatsächlich erst gebildet werden muß. Während zu ihrer Bildung die Blutthrombokinase mehrere Minuten braucht, vollzieht sich die Aktivierung der Gewebsthrombokinase blitzschnell in wenigen Sekunden (16). Zur vollen Aktivität des Gewebethromboplastins sind aber neben dem schon erwähnten Kephalin noch Ca nötig, der Faktor V (beziehungsweise Faktor VI), der Faktor VII (Prokonvertin) und der Stuart-Prower-Faktor. Aus diesen Substanzen setzt sich somit das "extrinsic"-System zusammen. Wie man sieht, ist es von Thrombocyten und den Antihämophiliefaktoren unabhängig. Das Prokonvertin (Faktor VII) ist im zirkulierenden Blute als inaktives Prokonvertin vorhanden. In dieser Form findet man es in einem Plasma, das mit durch Silicone-Technik unbenetzbar gemachten Glasoberflächen gewonnen wurde. Nach B r i n k h o u s (11) ist ein solches thrombocytenfreies Plasma praktisch nicht gerinnbar. Durch den Glas - kontakt und natürlich auch während der Gerinnung durch den Kontakt mit der verletzten Endothelstelle des Blutgefäßes wird das inaktive Prokonvertin in aktives Prokonvertin umgewandelt. Zusammen mit Ca und dem infolge der Gefäßverletzung in das Blut strömende Gewebsextrakt, das den gerinnungsaktiven Lipoidfaktor enthält, bildet es nun ein neues Produkt, das Konvertin. Dieses Konvertin bewirkt jetzt zusammen mit Ca eine langsame Umwandlung von Prothrombin in Thrombin - entsprechend der Auffassung von O w -

r e n (44).

Es ist erst in den letzten Jahren klar geworden, welche zentrale Stellung das Thrombin im Gerinnungsmechanismus einnimmt. Bereits äußerst geringe Mengen, die jetzt bei dieser langsamen Umwandlung frei werden, genügen, um die "Viscöse Metamorphose" der Plättchen einzuleiten. Hierdurch werden verschiedene Thrombocytenfaktoren frei, besonders auch der Plättchenfaktor 3, der für die Bildung der Blutthrombokinasen unentbehrlich ist. Das Thrombin aktiviert gleichzeitig auch den Faktor V (Proaccelerin) zum Faktor VI (Accelerin), wie von W a r e und M i t a r b. (68) festgestellt und was von O w r e n 1950 (46) bestätigt wurde. Das von Thrombin aktivierte Accelerin bildet weiter, nach Owren, in Gegenwart von Ca mit dem Konvertin einen neuen Komplex, die Prothrombinase, die die Fähigkeit besitzt, das Prothrombin ohne Ca direkt in Thrombin umzuwandeln. Die Prothrombinase ist wahrscheinlich ein Komplex, in dem das Accelerin mit Hilfe des Ca an das Konvertin gebunden ist (O w r e n). Die Untersuchungen von S e e g e r s und M i t a r b. 1950 (61) machen wahrscheinlich, daß während der Thrombinbildung eine Spaltung des Prothrombins auftritt und daß man die Prothrombinase deshalb als ein spezifisch proteolytisches Enzym betrachten müßte. Die Verwandlung von Prothrombin in Thrombin geht dann nach S e e g e r s vermutlich in Zwischenstufen vor sich.

Betrachten wir die Gesamtheit der bisher geschilderten komplizierten Reaktionen und kommen wir wieder auf die Rolle des Thrombins zurück, so erkennt man die eigenartige Tatsache, daß das Thrombin bei seiner eigenen Bildung die Rolle eines Katalysators spielt. Man kann deshalb mit Recht von einer Autokatalyse der Thrombinbildung sprechen.

Damit sind aber die Funktionen des Thrombins noch nicht erschöpft. Es kommen noch die blutstillenden Fähigkeiten hinzu, die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin und die Steigerung der Thrombocytenhaftfähigkeit. Das letztere darf man für die Bedeutung der Hämostase nicht unterschätzen. Kennt man doch in der vergleichenden Physiologie bestimmte Arthropodenarten, zum Beispiel die Krabbe *Limulus polyphemus*, die überhaupt keine Fibrinbildung oder einen ähnlichen Mechanismus aufzuweisen haben, trotzdem aber über eine zuverlässige Blutstillung verfügen - und zwar ausschließlich durch eine gesteigerte Haftfähigkeit thrombocytenähnlicher Zellen,

die sie besitzen. Es sind auch Zustände beim Menschen bekannt, wo es infolge Afibrinogämie bei vorhandener Thrombinbildung zu keiner Blutgerinnung kommen kann. Trotzdem ist das Leben nicht unmittelbar gefährdet, da neben anderen Schutzmöglichkeiten die Haftneigung der Thrombocyten außerordentlich gesteigert ist und so eine ausreichende Hämostase zustandekommen kann (16).

Schauen wir aber noch einmal zurück, um wieder den Anschluß an die Gerinnungsvorgänge zu finden: Wir sahen, daß das Konvertin mit Ca eine langsame Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin bewirkt. Das geschieht auch, wenn die Acceleratoren Proaccelerin und Accelerin fehlen. Das Konvertin ist somit das erste Wirkungsprinzip, das Prothrombin während der Gerinnung umwandelt(O w r e n , 45). Die geringen Mengen Thrombin, die dabei entstehen, genügen, um einen weiteren Mechanismus in Gang zu setzen, der im Jahre 1886 von E b e r t und S c h i m m e l b u s c h (15) zum ersten Male beschrieben und von ihnen "Viscöse Metamorphose der Plättchen" genannt wurde. Damit beginnt ein neues, völlig anderes Räderwerk in das verzweigte System der Blutgerinnung einzugreifen. Durch die jetzt entstehenden Plättchenveränderungen werden neue Faktoren frei, die Thrombocytenfaktoren, die nun an fast allen Punkten des Gerinnungsmechanismus fördernd eingreifen.

Ehe wir auf diese Vorgänge an den Plättchen zu sprechen kommen, soll in Abbildung 1 ein Schema nach der Auffassung O w r e n's (44) über das "extrinsic"-Gerinnungssystem gezeigt werden.

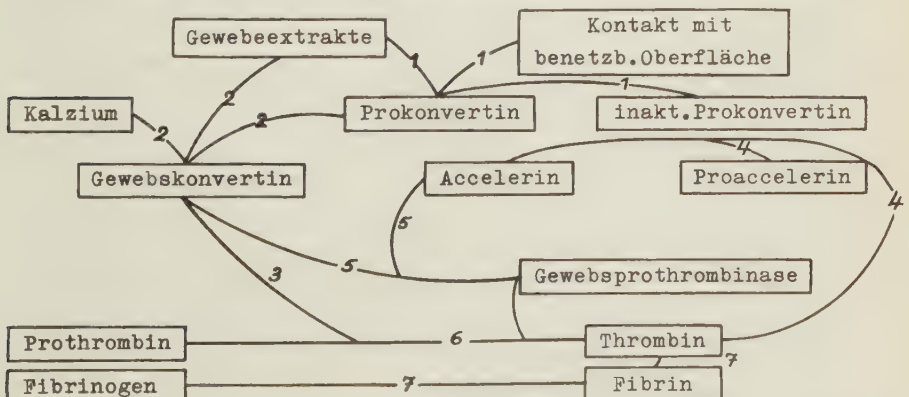


Abb. 1 : Schema des "extrinsic"-Gerinnungssystems nach Owren (44)
Erklärung: 1. Durch Oberflächenkontakt und Gewebeextrakt wird in

Anwesenheit von Ca aus inaktivem aktives Prokonvertin.

2. Gewebeextrakt bildet in Anwesenheit von Ca mit aktiviertem Prokonvertin das Gewebskonvertin.
3. Gewebskonvertin führt zur langsamen Prothrombin-Thrombin-Umwandlung.
4. Thrombin aktiviert Proaccelerin zu Accelerin.
5. Gewebskonvertin bildet mit Ca und Accelerin die Gewebsprothrombinase.
6. Gewebsprothrombinase wandelt in schneller Umbildung Prothrombin in Thrombin um.
7. Jetzt ist genügend Thrombin zur Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung vorhanden.

2. Das "intrinsic"-Gerinnungssystem:

Die Ergebnisse vieler Forscher wiesen darauf hin, daß zur Entstehung einer aktiven Blutthrombokinasen neben der bekannten Plättcheneinwirkung noch mehrere Gerinnungsfaktoren erforderlich sind. Das hat sich bestätigt - und heute besteht die weitverbreitete Ansicht, daß die Blutthrombokinasen in einer inaktiven Form im Plasma präformiert ist.

Faktor VIII - AHG:

Schon F e i s s l y (19) hat 1924 nachgewiesen, daß ein plättchenfreies, normales Plasma die Gerinnungsstörung bei der Hämophilie normalisiert - und 1911 stellte A d d i s (1) durch Säurefällung von Normalplasma eine Globulinfraktion dar, die, sogar in starker Verdünnung, das Hämophilieplasma normal gerinnen lies. P a t e k und S t e t s o n (47) aber erkannten erst nach Jahren den eigentlichen Gerinnungsfaktor in der Fraktion. Q u i c k (48) und andere Forscher zeigten dann, daß dieser Faktor mit den Plättchen und wahrscheinlich anderen Plasmafaktoren reagiert, wobei eine Substanz gebildet wird, die Prothrombin zu Thrombin umwandelt. Man nannte den Faktor "Antihämophiles Globulin" (AHG), später Antihämophiliefaktor A, da er die Hämophilie A bei seinem Mangel hervorrief - und nach neuerer Nomenklatur Faktor VIII. Man hat ihn noch nicht darstellen können.

Faktor IX:

Einen weiteren Faktor entdeckten A g g e l e r und M i t a r b. (2) und nannten ihn Plasmathromboplastin Component (PTC). Sehr

wahrscheinlich ist er mit dem Christmas-Faktor von B i g g s, D o u g l a s und M a c f a r l a n e (5) identisch. Seine Verminderung bewirkt die Hämophilie B. Man nannte ihn Antihämophilie B-Faktor, nach der neuen Nomenklatur Faktor IX. Wie wir schon anfangs erwähnten, ist der Faktor IX einer von den Gerinnungsfaktoren, die in einer inaktiven Stufe vorliegen und durch Kontakt des Blutes mit benetzbaren Oberflächen aktiviert werden können (3), (5), (52). Wie E g l i und K l e s p e r (17) feststellen konnten, liegt der Christmas Faktor im Plasma nur in einer sehr geringen, durch Glaskontakt nur sehr wenig zu steigern- den Aktivität vor, während er im Serum leicht und sehr stark zu aktivieren ist. Die beiden Autoren konnten während des Gerinnungs- vorganges nur dann eine gesteigerte Faktor IX-Aktivität feststellen wenn die Gerinnung innerhalb benetzbarer Oberflächen ablief. Dabei scheint die Anwesenheit von Ca für die Kontaktaktivierung des Fak- tors unentbehrlich zu sein. - Über den Mechanismus der Glasakti - vierung des Faktors IX sind die Meinungen noch umstritten. R a p a p o r t, A a s, und O w r e n (5) wiesen auf die mögliche Ad - sorbtion eines positiv geladenen Inhibitors des Faktors an die ne- gativ geladene Glasoberfläche hin. Nach Auffassung von S o u l i e r W a r t e l l e und M e n a c h e (64) hängt die Aktivierung des Faktors IX von der Aktivierung des Hagemann Faktors durch Glaskontakt ab. Dabei sollen der aktivierte Hagemann- und der PTA- Faktor von Rosenthal zusammen ein Produkt bilden, das dann schließ- lich den Faktor IX aktiviert.

Faktor X:

Dieser Faktor wurde von K o l l e r (35) beschrieben. Er ist, ähnlich dem Faktor IX stark im Serum angereichert und spielt in der Vorphase der Blutgerinnung die Rolle eines Akzelerators. Ohne ihn kommt die Blutthrombokinasbildung zwar zustande, aber wesent- lich verlangsamt (33). Er ist möglicherweise mit dem Stuart-Pro- wer-Faktor identisch (33 b). Lange Zeit konnte eine Mangeler - scheinung nicht beschrieben werden, sie ist erst in der letzten Zeit bekannt geworden (33 a). Die Definition des Faktors X ist inzwischen von K o l l e r und M i t t a r b. widerrufen worden. Entsprechend einer Entscheidung des internationalen Comitees für die Nomenklatur von Blutgerinnungsfaktoren(Montreux 1959) erhielt der Stuart-Prower-Faktor die Nummer X. Koller nannte von nun ab seinen Akzeleratorfaktor "Plasma Preface Accelerator (PPA), den er

vom Stuart-Faktor abtrennte.

PTA-Faktor:

Der PTA-Faktor von R o s e n t h a l ruft bei seinem Mangel ebenfalls eine Störung in der Vorphase hervor, die gewisse Ähnlichkeit mit der Hämophilie aufweist (33 a). Man nannte diese Erscheinung Hämophilie C und gab dem Faktor auch den Namen "Antihämophiliefaktor C. Er ist ebenfalls durch Oberflächen aktivierbar.

Der letzte Faktor, der neben Ca und dem Plättchenlipoidfaktor an der Blutthrombokinasbildung beteiligt ist, ist der Hagemann-Faktor. Er wird im Speziellen Teil ausführlich besprochen.

Die Blutthrombokinase bildet sich also aus den Faktoren VIII, IX, X, PPA, dem PTA- und Hagemann-Faktor, dazu kommt die Anwesenheit von Kalzium und der Plättchenfaktor 3. Zu ihrer völligen Aktivierung ist, wie auch beim "extrinsic"-Gerinnungssystem, auch wieder die Kontaktwirkung fremder Oberflächen erforderlich. Dadurch werden bestimmte Gerinnungsfaktoren aktiviert, wie wir gesagt haben, zu denen nach der heutigen Auffassung, die aber noch in manchen Punkten umstritten ist, nach R a p a p o r t, A a s und O w r e n (51) der Faktor IX, Prokonvertin, der PTA- und der Hagemann-Faktor gehören. Der Kontakt mit der verletzten Gefäßintima bewirkt also auf der einen Seite die Bildung von Gewebsthrombokinas, wie schon erwähnt wurde, und die dann von ihr sehr schnell gebildeten Thrombinspuren, die die "Viscöse Metamorphose" einleiten, setzen auf diesem Wege den Plättchenfaktor 3 in Freiheit, der sich, nun von den Thrombocyten her, an der Bildung der Blutthrombokinase beteiligt. Auf der anderen Seite aktiviert aber die fremde Oberfläche auch die drei erwähnten Blutkinasfaktoren. Inzwischen geht jedoch über die Faktoren V und VI die Autokatalyse des Thrombins weiter, immer mehr Plättchen fallen somit der "Viscösen Metamorphose" anheim und mehr Blutthrombokinase kann gebildet werden. Dadurch steigt natürlich wieder die Thrombinbildung an. Man sieht also, daß die Gesamtheit dieser Reaktionen zu einem lawinenhaften Ansteigen der Thrombinkonzentration führt, die schließlich zu einer Gefahr für den Organismus führen könnte, wenn die Kettenreaktion vorher nicht unterbrochen würde. Wie groß diese Gefahr ist, beweist schon alleine die Tatsache, daß die aus 10 cm^3 Blut aktivierte Thrombinmenge genügen würde, das gesamte Blut eines Erwachsenen innerhalb weniger Sekunden zur Gerinnung zu

bringen (16). Die Blockierung wird durch das Fibrin verursacht, das die Eigenschaft besitzt, große Thrombinmengen zu adsorbieren. So wird das Thrombin auf die verletzten Gefäßbezirke beschränkt und kann nicht mehr mit dem Blutstrom fortgeschwemmt werden. Seeger, Johnson und Fell (60) haben auf Grund dieser Eigenschaft das Fibrin unter die Hemmfaktoren des Thrombins eingereiht und nannten es Antithrombin I.

Zum Schluß soll noch kurz die Vorstellung O w r e n's über das "intrinsic"-Gerinnungssystem aufgezeigt werden. Er nimmt an (44) daß aus oberflächenaktiviertem Faktor IX (Antihämophiliefaktor B), aus dem Plättchenlipoidfaktor, dem Plasmafaktor VIII (Antihämophiliefaktor A) und anderen Antihämophiliefaktoren in Gegenwart von Ca eine dem Konvertin ähnliche Substanz gebildet würde, das Blutkonvertin. Genau wie das Gewebskonvertin im "extrinsic"-System soll es eine langsame Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin hervorrufen. Dann wird durch Thrombin wieder das Akzeleratorsystem in Bewegung gesetzt (Faktor V und VI), das mit Blutkonvertin schließlich die Blutprothrombinase bildet. Sie wandelt, ohne dabei Ca zu benötigen, das Prothrombin direkt in Thrombin um, das dann das Fibrin aktiviert.

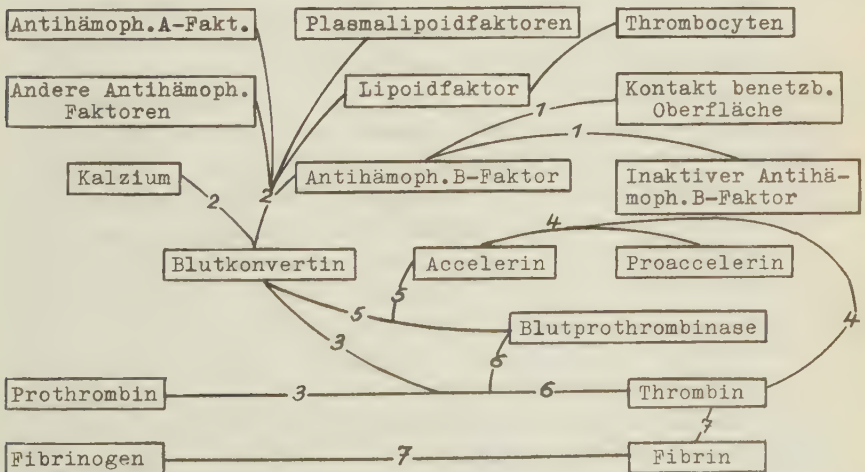


Abb. 2 : Schema des "intrinsic"-Gerinnungssystems nach O w r e n (44).

Erklärung: 1. Kontakt mit fremder Oberfläche leitet die Koagulation ein:

- a. durch Aktivierung des Antihämophilie C-Faktors (PTA),
- b. durch direkte oder wahrscheinlich indirekte Desintegration der Plättchen und Freiwerden des Thrombocytenlipoidfaktors.
2. Reaktion zwischen Lipoidfaktor, PTA und anderer Antihämophiliefaktoren in Gegenwart von Ca, wobei Blutkonvertin gebildet wird.
3. Blutkonvertin ruft in Gegenwart von Ca eine langsame Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin hervor.
4. Das anfangs gebildete Thrombin aktiviert Faktor V zu Faktor VI
5. Blutkonvertin und Faktor VI bilden mit Ca Blutprothrombinase.
6. Blutprothrombinase ruft rasch eine Umbildung von Prothrombin zu Thrombin hervor.
7. Thrombin wandelt das Fibrinogen in Fibrin um.

II. Veränderungen der Plättchen während der Hämostase

Im Verlaufe der Blutgerinnung machen die Plättchen eine Reihe von sichtbaren morphologischen Veränderungen durch, die mit ihrer völligen Zerstörung endet. Diese Vorgänge wurden zuerst von Ebert und Schimmelbusch (15) schon vor über 100 Jahren beobachtet. Danach haben viele Autoren Bilder dieser morphologischen Veränderungen veröffentlicht, teils mit dem Phasenkontrastmikroskop, teils mit der Dunkelfeldtechnik oder mit Hilfe des Elektronenmikroskopes. Im Jahre 1951 ist der Ablauf der "Viscösen Metamorphose" von Roskam und Mitarb. (57) im Film festgehalten worden. Der Ausdruck "Viscöse Metamorphose", der ebenfalls von Ebert und Schimmelbusch stammt, soll zum Ausdruck bringen, daß es sich dabei mehr um einen Gestaltwandel der Thrombocyten handelt als um einen eigentlichen Zerfall. Wie treffend diese Bezeichnung für diesen Vorgang auch heute noch ist, zeigen neuere Untersuchungen von Bounameaux (10). Er konnte nachweisen, daß die Plättchen nicht notwendigerweise zerstört werden müssen, um die Blutthromboplastinbildung zu ermöglichen, daß ihre Rolle vielmehr in der Katalyse besteht, denn er konnte völlig intakte Plättchen wiederfinden, nachdem sich in ihrer Gegenwart ein sehr aktives Thromboplastin gebildet hatte. Ihre Gegenwart dabei ist aber unabkömmllich.

Wie es Fonio (24) schon beschrieben hat, befinden sich im strömenden Blute die Thrombocyten als scheibchenförmige, runde

oder ovale Gebilde in ihrer "Ruheform". Je nach Blutentnahmebedingungen spielen sich an ihnen schon morphologische Veränderungen ab. Verhindert man die Gerinnung des abgenommenen Blutes, so bilden sich zipfelförmige Ausstülpungen am Plättchenrande; die Zellen gehen in die "Reizform" über und bekommen eine mehr sternförmige Gestalt. Je nach dem verwendeten Antikoagulantium sollen die Veränderungen verschieden sein. So soll bei Komplexonlösung mehr die runde, bei Oxalat- und Citratlösung mehr eine scheibchenförmige Form vorherrschen. All das kann sich jedoch wieder zurückbilden die Pseudopodien können wie Schneckenhörner eingezogen werden und die Zellen in ihre "Ruheform" zurückkehren. Kommt es jedoch durch eine Läsion des Gefäßendothels zur Blutgerinnung, so werden die Plättchenveränderungen irreversibel. Man beobachtete, wie jetzt die Pseudopodien immer länger wurden und daß Segmentierungerscheinungen in ihnen auftraten. Im Zentrum der Zelle bildeten sich Granula, gleichzeitig breitete sich dabei das Hyaloplasma aus, die Zellgrenzen wurden unscharf und die Thrombocyten schwellen an (41). Dabei wurden die Plättchen klebrig, sie hafteten an der verletzten und dadurch benetzbar gewordenen Gefäßoberfläche an (Adhäsivität), verklebten gleichzeitig auch miteinander (Agglutination), sodaß am Ende überhaupt keine Zellgrenzen mehr wahrzunehmen waren (24).

1. Plättchenadhäsivität:

Nach R. J ü r g e n s (34) haften an ihrer Oberfläche veränderte Plättchen an benetzbaren Flächen an. Das ist für die Blutstillung von wesentlicher Bedeutung. Wird ein kleines Gefäß verletzt, haften die Plättchen an den Wundrändern an, bilden hier einen Plättchenthrombus und verschließen, zusammen mit Fibrinfäden, das Gefäß. Kommt es, wie zum Beispiel beim Skorbut oder manchen hämorrhagischen Diathesen zur Lockerung der interendothelialen Substanzen, und tritt auf diese Weise Blut aus den Gefäßen aus, dichten die Thrombocyten durch eine gesteigerte Haftfähigkeit die Kapillarwände ab. Das Ausmaß der Adhäsivität kann man mit Hilfe des "Wright'schen Rotators", einem sich langsam drehenden Glaszylinder bestimmen, indem man vor und nach der Rotation die Plättchen auszählt. Je mehr Thrombocyten an der Glaswand haften, um so geringer werden ihre Zahlen in der entnommenen Plasmaprobe. Von R o s k a m

(57) stammt die Auffassung, daß ohne gewisse Veränderungen der Fremdkörperoberfläche eine Plättchenadhäsivität an ihr nicht möglich sei. - Wir haben uns in dieser Arbeit besonders mit diesem Phänomen auseinandergesetzt und kommen im Speziellen Teil noch ausführlich darauf zu sprechen.

2. Agglomeration:

Sie ist in ihrer Wirkung mit der Adhäsivität verwandt. Beide können bei Thrombosen gesteigert und bei hämorrhagischen Diathesen vermindert sein. Nach A p i t z (zitiert in: 34) soll die Agglutination durch Profibrin, einer Fibrinvorstufe zustandekommen. Diese Hypothese hat sich jedoch nicht bestätigt. Nach J o h n s o n und S c h n e i d e r (32) sollen die Thrombocyten einen Faktor enthalten, den "clottable factor", der bei Alteration der Plättchen von ihnen abgegeben, die Agglomeration und Agglutination bewirkt. Er ist wahrscheinlich mit dem Fibrinogen identisch und gehört mit zur adsorbierten Plasmahülle der Thrombocyten (33 e), auf die wir später noch eingehen. Nach S t a r l i n g e r und S o m e t r i k (zitiert in: 34) soll die Agglutination zugleich auch durch Ausgleich elektrischer Potentiale bedingt sein, denn die Plättchen wandern im elektrischen Feld zum positiven Pol. Es herrscht aber immer noch keine völlige Klarheit darüber, wie die "Viscöse Metamorphose" der Plättchen eigentlich entsteht. Es steht fest, daß gewisse Thrombinspuren auf der Plättchenoberfläche eine entscheidende Rolle spielen. Wie diese Thrombinspuren zustandekommen, haben wir schon bei der Besprechung des "extrinsic"-Gerinnungssystems erwähnt. Weiter ist gesichert, daß neben den Thrombinspuren ein anderer Faktor hinzukommen muß. Nach J o h n s o n und S c h n e i d e r (32) ist das der schon erwähnte "clottable factor", nach L ü s c h e r (41) ein teilweise dialysierbarer thermostabiler Co-Faktor des Thrombins, der aus dem Plasma oder Serum stammt. Zum anderen kann das Thrombin auch direkt an der Thrombocytenoberfläche gebildet werden. Ortsfest an den Thrombocyten gebunden ist der Plättchenfaktor 3, ein Phospholipoid (J ü r g e n s R. und D i a l e r: 34, D e u t s c h und M i t a r b.: 14). Dann hat B o u n a m e a u x (10) nachgewiesen, daß sich, adsorbiert an der Plättchenoberfläche, Prothrombin und Ca-Ionen befinden. Ebenfalls ist

an der Thrombocytenoberfläche Faktor V adsorbiert, den man früher als den Plättchenfaktor 1 angesehen hatte (45). Das umgebende Plasma enthält aber die übrigen zur Thrombinbildung notwendigen Faktoren. In Gang soll dieser Thrombinbildungsmechanismus erst dann kommen, wenn durch Berührung mit benetzbaren Oberflächen plasmatische Gerinnungsfaktoren, wohl hauptsächlich Faktor IX, aktiviert werden und dann mit Ca offenbar ein Zwischenprodukt bilden. Dieses sogenannte Produkt I sollte dann nach B e r g s a - g e l (59) unmittelbar die "Viscöse Metamorphose" bedingen. B o u n a m e a u x (10) bezweifelte das und sagte, daß das intermedäre Produkt Bergsagels nicht in der Lage sei, die Desintegration der Plättchen herbeizuführen, wenn es kein Thrombin enthält.

3. Die Mikrogerinnung auf der "Periplaquettären Hülle":

In den letzten Jahren hat die Ansicht von der Mikrogerinnung einer adsorbierten Plasmahülle der Thrombocyten ein völlig neues Licht auf den Beginn der "Viscösen Metamorphose" der Plättchen geworfen. B o u n a m e a u x (9) hat 1957 nachgewiesen, daß die Plasmazone der Plättchen neben Ca und Prothrombin auch noch die Faktoren VII, VIII, IX und X enthält. Nach S a l m o n und B o u n a m e a u x (58) befindet sich in dieser "plaquettären Hülle" auch noch Fibrinogen. Das konnte auch S e l i g m a n n (62) nachweisen. Nach dieser neuen Ansicht führen die durch die Gewebsthrombokinasen sehr schnell gebildeten minimalen Thrombinspuren sofort zu einer Mikrogerinnung in der "plaquettären Hülle" zur Agglomeration und schließlich zur "Viscösen Metamorphose" der Plättchen. Zu dem Thrombin sollen nach B o u n a m e a u x (10) noch einige Co-Faktoren hinzukommen, wie das Phosphat, der Phosphorsäureester der Fructose und Glucose, das Carbonat oder zahlreiche chemische Substanzen mit der COOH-Gruppe. So muß man erwarten, daß um die Plättchen selbst die Thrombinkonzentration weit größer ist als im umgebenden Plasma. So hat schon L ü s c h e r 1956 (41) die Ansicht geäußert, daß man sich im Extremfalle sogar eine Thrombinbildung am Thrombocyten vorstellen könne, ohne daß sie im umgebenden Plasma festzustellen sei. Wie er auch selbst darauf hinweist, gibt es eine Menge Gründe für diese Annahme. Das Plasma selbst ist reich an Thrombinhemmstoffen,

die am Thrombocyten völlig fehlen. Thrombocytenfaktor 4 ist gegen das Heparin gerichtet, einem der wichtigsten Antithrombine überhaupt. Durch den Thrombocytenfaktor 2 wird die Thrombinmenge vergrößert und dadurch die weitere Zerstörung der Plättchen begünstigt. Der Plättchenfaktor 1 oder Faktor V beschleunigt die Prothrombin-Thrombin-Umwandlung (Mann, Hurn und Magath 42), Ware, Fahey und Seegers (68) und ist vom Thrombocyten nur schwer abzuwaschen (33c). So sieht man, daß tatsächlich an der Plättchenoberfläche ungemein günstigere Bedingungen für die Thrombinbildung herrschen als im umgebenden Plasma.

4. Die Desintegration - Viscöse Metamorphose der Plättchen:

Die infolge der Mikrogerinnung ihrer Plasmahülle klebrig gewordenen Plättchen haften nun aneinander an und bilden eine große Zahl kleinerer und schließlich größer werdender Agglutinate. Nach Foniö (24) sind in den Agglutinaten die Thrombocyten anfangs noch gut als einzelne Zellen zu sehen, dann aber werden die Konturen zunehmend undeutlicher, schließlich ganz unsichtbar - und aus dem Agglutinat entsteht ein amorphes Konglomerat. Beobachtet man noch einige Zeit weiter, so werden unter dem Mikroskop Fibrinadeln sichtbar, die igelförmig das Konglomerat durchsetzen. Sie tauchen auch in den benachbarten Plasmabezirken auf und schließlich im ganzen Gesichtsfeld. Am Ende hat sich dann ein Mikrothrombus gebildet.

Neben der Fähigkeit der Plättchen, sämtliche plasmatische Gerinnungsfaktoren an ihrer Oberfläche zu adsorbieren, zeigt sich am Ende der Viscösen Metamorphose, daß sie jetzt eine Reihe gerinnungsaktiver endogener Sekretionsprodukte abgegeben haben, die in die verschiedensten Gerinnungsabläufe eingreifen - die Thrombocytenfaktoren. So hat schon Bordet und Delange 1911 (7) auf die Bedeutung der Plättchen für die Prothrombin-Thrombin-Umwandlung hingewiesen, die Autoren Quick (48) und Brinkhous (11) berichteten ebenfalls darüber. Nach ihnen enthält das Serum von thrombopenischem Blut bedeutend mehr Prothrombin als normales Serum. So muß bei Plättchenmangel also die Thrombinbildung verzögert ablaufen (44). Das kommt daher, daß die Thrombocyten wesentlich an der Blutthrombokinasbildung

mit beteiligt sind und zwar durch den Plättchenfaktor 3. Man sieht auch hier wieder, wie ein Räderwerk in das andere greift. Die vom "extrinsic"-System gebildeten Thrombinspuren trugen wesentlich mit zum Beginn der Viscösen Metamorphose bei, die Plättchendesintegration wiederum ermöglicht erst durch den Plättchenfaktor 3 eine völlige Blutthromboplastinbildung. Im Speziellen Teil werden wir ausführlich über einen weiteren Mechanismus zu sprechen kommen, der ebenfalls an der initialen Thrombinbildung in der "plaquettären Hülle" mitbeteiligt ist und auf diese Weise die Thrombocytenagglomeration und Adhäsivität auslöst.

5. Die Thrombocytenfaktoren:

Wir wollen uns hier nur darauf beschränken, die Thrombocytenfaktoren aufzuzählen und zwar in einer Reihenfolge, wie sie im Buch von J. J ü r g e n s und F.K. B e l l e r (33 d) wiedergegeben sind.

1. Plättchenfaktor 1 : mit Proakzelerin (faktor V) identisch.
2. Plättchenfaktor 2 : Akzelerator bei der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung.
3. Plättchenfaktor 3 : bildet mit Plasmafaktoren zusammen Blutthrombokinase.
4. Plättchenfaktor 4 : mit heparinneutralisierendem Effekt.
5. Clottable factor : wahrscheinlich mit Fibrinogen identisch. Er bewirkt die Agglutination und Agglomeration
6. Retraktionsfaktor : (Retraktozym nach F o n i o)
7. Plättchenantifibrinolysin : mit fibrinolysin(Plasmin)-neutralisierender Eigenschaft.
8. Plättchenvasokonstriktor: wahrscheinlich mit Serotonin identisch.
9. Plättchenhistamin.
10. Plättchenvasodepressor : Existenz ist umstritten.
11. Enzyme mit Angriffspunkten auf verschiedene fermentative Abläufe: Hyaluronidase, Phosphatase, Acethylcholinesterase, Histaminase, Katalase.

und B recessiv geschlechtsgebunden auftreten, haben wir es hier mit einem autosomalen Erbgang zu tun, und schon aus diesem Grunde konnte man diese Mangelerkrankung nicht unter die echten Hämophilien rechnen. Die Manifestation dieses Faktormangels konnte auch durch die Homocygotität eines anormalen Gens erklärt werden, das sich nicht im heterocygoten Zustand zeigt. Neuere Untersuchungen von R a t n o f f und M a r g o l i u s (50) scheinen dieser letzten Möglichkeit zu ähneln. Es ist jedenfalls wahrscheinlich, obwohl es noch nicht nachgeprüft wurde, daß die Patienten mit einem Mangel an diesem Faktor diesen Fehler schon seit ihrer Geburt besitzen.

Nach der Entdeckung dieser neuen Gerinnungsstörung konnten noch im gleichen Jahre R a m o t, S i n g e r, H e l l e r und Z i m m e r m a n n (50), sowie F r i c k und H a g e n (26) über ähnliche Fälle mit einem derartigen Faktormangel berichten - und schon ein Jahr später wurde durch J i m und G o l d f e i n (31) der siebente Fall in der Literatur bekannt. Übereinstimmend wurde von ihnen wie von anderen Autoren das Fehlen jeglicher pathologischen Blutungstendenz gefunden und die oben erwähnten drei Symptome: verlängerte Gerinnungs- und Recalzifizierungszeit, gestörter Prothrombinverbrauch. Der somit bestätigte neue Gerinnungsfaktor der Vorphase wurde schließlich nach dem ersten Patienten mit dieser Erkrankung "Hagemann Faktor" genannt und seine Mangelerkrankung bekam den Namen "Hagemann Zeichen (Hagemann trait) Nie war vorher auf die Möglichkeit hingewiesen worden, daß man Jahre hindurch eine verlängerte Gerinnungszeit haben kann ohne einen offensichtlichen Schaden bei operativen Eingriffen, Geburten, Menstruationen und Verletzungen davonzutragen. Wie der Mechanismus wirkt, der die Gerinnungsstörung überwindet und diese Menschen vor Schaden schützt, konnte noch nicht erforscht werden. Wenn die Vermutung richtig ist, daß der Hagemann Faktor auch im Gewebe vorhanden ist, könnte damit das Fehlen jeder klinischer Symptome nach einer Verletzung erklärt werden.

II. Die Natur des Hagemann Faktors :

Die beiden Entdecker des Hagemann Zeichens konnten schon 1955 viele wesentliche Angaben über diese neue hämorrhagische Diathese und über die Natur des Gerinnungsfaktors machen, durch dessen

Fehlen sie verursacht wird (54). So konnten sie zum Beispiel feststellen, daß die lange Gerinnungszeit das Ergebnis eines Plasmadefektes war, denn ein plättchenarmes Plasma dieser Patienten war in einem normalen Glasröhrchen ungerinnbar. Das wurde auch aus der Tatsache ersichtlich, daß bei ihrem ersten Patienten eine Transfusion von 250 ml normalem menschlichen Citratplasma die Gerinnungsstörung normalisierte. Schon nach eineinhalb Stunden ging die Recalcifizierungszeit stark zurück (von 60 auf 12 Minuten), war allerdings 18 Stunden nach der Transfusion wieder auf 65 Minuten angestiegen. Es mußte also der neue Gerinnungsfaktor im Blute dieser Patienten schon nach relativ kurzer Zeit wieder verbraucht oder zerstört worden sein. Ein Oxalatplasma, das durch Bariumsulfat adsorbiert wurde, verbesserte die Gerinnungsstörung ebenso gut wie ein Oxalatplasma, das vier Wochen bei 4 Grad Celsius gelagert hatte. Sogar die Eliminierung der Substanzen, die an das Bariumsulfat adsorbiert worden waren, bewahren noch einige Aktivität. Das alles zeigt, Bariumsulfat adsorbiert den Hagemann Faktor nicht oder nur in geringen Massen und er ist lange Zeit lagerungsbeständig. - Neuen Plasma verkürzte auch normales Serum die Gerinnungszeit bei den drei untersuchten Patienten, selbst wenn es 6 Wochen bei 4 Grad Celsius gelagert hatte, wenn es noch volle Aktivität. Weiter wurde die Hitzebeständigkeit des Hagemann Faktors untersucht. Es zeigte sich bei einem oxalatsulfatadsorbierten Serum, das 10 Minuten bei 60 Grad Celsius schmelzen war, daß die Aktivität des Hagemann Faktors nur nur geringen Verlusten unterworfen blieb. Erst durch 15 Minuten langes Erhitzen des Serums bei 70 Grad wurde der Faktor zerstört, aber bei dieser Temperatur unveränderlich je bekanntlich alle Grundstoffe. Die neue neue Natur des Hagemann Faktors wurde ebenfalls dadurch festgestellt, daß durch Nitzung eines einer wässrigen Mischfraktion aus einem normalen Plasma oder Serum von oxalatsulfat adsorbiert werden konnte. Die Mischfraktion wurde aus verunreinigten Plasma oder Serum bei einem pH-Wert von 4,5 bis 5,5 ausgefällt. Die beiden gleich starke Aktivität, die durch 15 Minuten bei 70 Grad Celsius feststellen, daß diese Fraktionen bei ihrer Fällung erhalten. Das aktive Prinzip ist ihnen nicht ebenfalls eine Fraktion bis zu 60 Grad Celsius aus. Allerdings war es möglich, ob der FTA-Faktor ein oder zwei waren, durch die Mischfraktion wurde in Glasröhrchen des Aus-

maß der Prothrombin-Thrombin-Umwandlung außerordentlich beschleunigt. Die beiden Autoren vermuteten, daß der Hagemann Faktor an der Thromboplastinbildung mit beteiligt sei. Diese Vermutung wurde dann im folgenden Jahre durch R a m o t, S i n g e r, H e l l e r und Z i m m e r m a n n (50) bekräftigt, die bei ihrem Patienten mit Hagemann Zeichen eine Störung in der Blutthromboplastinbildung feststellen konnten, die deutlich von anderen, ähnlichen "hämophilen Syndromen", zum Beispiel durch Fehlen von Faktor VIII, Christmas Faktor oder PTA-Faktor, unterschieden werden konnte. Es ist auch ganz offensichtlich so, daß die hagemannaktive Globulinfraktion für die optimale Gerinnung des Blutes vorhanden sein muß, denn bei den Patienten mit dem Hagemann Zeichen ist ja die Gerinnungszeit so stark verlängert. Weiterhin muß man annehmen, daß der Hagemann Faktor in der Fraktion in einer inaktiven Vorstufe vorliegen muß und daß er bei Blutaustritt aus dem verletzten Gefäß erst aktiviert wird, denn die Globulinfraktionen verbesserten nicht nur die Störung bei den Hagemann-Mangel-Patienten, sondern beschleunigten auch die Gerinnung normalen Plasmas. Wie diese Aktivierung erfolgt, konnte noch nicht festgestellt werden. Interessant war die weitere Beobachtung der beiden Autoren, daß die aktive Globulinfraktion aus einem hämophilen Plasma eine geringere Wirkung hatte als eine normale Globulinfraktion, obgleich das hämophile Globulin in der gleichen Menge wie das normale Globulin vorhanden war. R a t n o f f und C o l o p y wiesen in ihrer Arbeit auf die Möglichkeit hin, daß der Hagemann Faktor seine volle Wirkung erst zusammen mit dem Antihämophiliefaktor entfalte.

Andere Forscher, darunter F r i c k und H a g e n (26) stellten elektrophoretische Untersuchungen an und fanden die Hagemann-Faktor-Aktivität in einer Globulinfraktion und zwar zwischen den Beta- und Gammaglobulinen. L e w i s, W a l t e r s, D i d i s h e i m und M e r c h a n t (35) wiesen dabei auf das Zusammenfallen des Hagemann Faktors mit der PTA-Faktor-Aktivität hin. Diese ähnliche Fraktionsverteilung dieser beiden Globuline macht schon darauf aufmerksam, daß die beiden, offenbar verschiedenen Krankheiten, das Hagemann Zeichen und der PTA-Mangel, nahe verwandt sein könnten. Auch sonst haben ja beide Faktoren manche Gemeinsamkeiten, nur daß der Hagemann Faktor wesentlich hitzebeständiger ist und widerstandskräftiger als der PTA-Faktor. So sind

beide in normalem, baryumsulfatadsorbierten Plasma und Serum vorhanden, die Mangelzustände beider werden autosomal vererbt, das heißt, es können weibliche und männliche Geschlechter betroffen werden und endlich fehlt bei beiden auch das Auftreten spontaner Hämorrhagien. Im Gegensatz zum Hagemann Zeichen kann es jedoch bei PTA-Mangel nach Verletzungen oder chirurgischen Manipulationen zu manchmal sogar recht erheblichen Blutungserscheinungen kommen. Man kann sie dann in diesem Falle durch große Mengen Frischblut behandeln, während beim Hagemann Zeichen nur geringe Mengen alten Blutes (50 cm^3) augenblicklich den Gerinnungsdefekt normalisieren (50).

Aber noch ein anderer Faktor scheint entweder mit dem Hagemann Faktor nahe verwandt, wenn nicht überhaupt identisch zu sein. Wie aus früheren Arbeiten bekannt wurde, gerinnt das Blut bei Kontakt mit Glas weit besser als bei Kontakt mit einer unbenetzbaren Oberfläche wie zum Beispiel in einem siliconierten Glasröhrchen (51). Die Untersuchungen von S h a f r i r und D e V r i e s (63) haben gezeigt, daß die gerinnungsfördernde Wirkung des Glases die Anwesenheit des Hagemann Faktors oder eines anderen unbekannten Faktors erforderte, denn der Kontakt mit Glas brachte im Oxalatplasma einer Hämophilie A, das frei von Plättchen war, frei von Prothrombin, von Faktor IX, Prokonvertin, Proakzelerin und frei von Fibrinogen eine gerinnungsfördernde Aktivität in Gang. Diese Akzeleratorwirkung einer Glasoberfläche, unabhängig von der schon erwähnten Glasaktivierung des Prokonvertins und des Faktors IX (51), wurde von L e w i s und M e r c h a n t (38) als "Glasfaktor" bezeichnet. Patienten mit einem Mangel an den Faktoren V, VII, VIII, IX und dem Stuart-Prower-Faktor hatten einen normalen Glasfaktor (38). Ebenfalls ein normales baryumsulfatadsorbiertes Plasma, das also kein Prothrombin, keinen Faktor VII und IX besitzt. Beim Plasma eines Patienten mit dem Hagemann Zeichen besaß das Glas jedoch keine gerinnungsfördernde Kraft - und auch ein gefroren gelagertes PTA-Mangelplasma hatte sie nur in geringem Grade (38). Das spricht stark für die Identität des Hagemann Faktors mit dem Glasfaktor. Die Tatsache, das beide Gerinnungsfaktoren als Gammaglobuline vorliegen (39), und daß die elektrophoretische Verteilung des Glasfaktors fast ganz genau mit der des Hagemann Faktors übereinstimmt (38), sind weitere Hinweise für die sehr wahrscheinliche Richtigkeit dieser Annahme. In

diesem Zusammenhange verweisen wir noch auf die Untersuchungen von S o u l i e r, W a r t e l l e und M e n a c h e (64), die 1958 veröffentlicht wurden. Diese Autoren stellten fest, daß sich ein Hagemann Faktor-Mangelplasma nicht durch Glas aktivieren läßt. Wenn aber glasaktivierter Kontaktfaktor (hier wird der Glasfaktor als Kontaktfaktor bezeichnet) hinzugegeben wurde, konnte der Mangel behoben werden. Andererseits ließ sich ein PTA-Mangelplasma einwandfrei durch Glaskontakt aktivieren, war aber unempfindlich auf das Hinzugeben von glasaktiviertem Kontakt - (Glas-) Faktor. So wurde also auch durch diese Untersuchungen die Identität des Hagemann Faktors mit dem Glasfaktor bewiesen. Schließlich soll noch auf die inaktive Vorstufe des Hagemann Faktors und auf die Wieder-Inaktivierung des einmal aktiv gewordenen Faktors eingegangen werden: Es ist bewiesen, daß durch Glaskontakt der Hagemann Faktor aktiviert wird (63). Er muß also in einer inaktiven Stufe im Plasma vorliegen. R a t n o f f und R o - s e n b l u m (56) haben nun diesen Aktivierungsmechanismus untersucht. Sie gingen dabei von der Beobachtung aus, daß Entenplasma einen Mangel an Hagemann Faktor zu haben schien. Wenn nun so ein Plasma vor der Glasaktivierung mit Menschenplasma gemischt wurde, kam die gerinnungsfördernde Wirkung des Glases nicht zu stande. Jedoch verhinderte das Entenplasma nicht die Akzelerierung der Gerinnung bei einem Menschenplasma, das früher mit Glas behandelt worden war. Die gleichen Ergebnisse wurden bei Verwendung von Hagemann-Mangelplasma statt des Entenplasmas erzielt. So schien also das Entenplasma oder das Plasma von Patienten mit dem Hagemann Zeichen die Aktivierung des Hagemann Faktors durch Glas zu verhindern.

Über andere Untersuchungen hat M a r g o l i u s berichtet (53). Er sagt, daß der gerinnungsfördernde Faktor in glasbehandeltem Plasma rapide an Aktivität verliert. Wir sind schon bei Besprechung der Natur des Hagemann Faktors auf die schnelle Verminderung dieses Faktors nach einer Bluttransfusion eingegangen. 250 ml normales Citratplasma normalisierten rasch die Recalcifizierungszeit eines Hagemann-Mangelplasmas, aber schon nach relativ kurzer Zeit stieg sie wieder an, ja ging sogar etwas über ihre ursprüngliche pathologische Zeit hinaus. R a t n o f f (53) weist nun darauf hin, daß das Plasma ein Enzym enthält, das den befreiten Hagemann Faktor wieder inaktiviert. Dieses Enzym ist in normalen Plasma an-

wesend, auch nach Erhitzung auf 56 Grad Celsius, im delipidisierten Plasma und auch im Plasma von Patienten mit dem Hagemann Zeichen. Seine Wirkung soll durch Glas und durch die Dekalzifizierung nicht beeinflusst werden. Das Enzym ist in einer Plasmafraktion konzentriert vorhanden und wird in der IV-4. Cohnfraktion gefunden.

So scheint es also, daß zwei inhibitorische Aktivitäten gegen den Hagemann Faktor gerichtet sind und die dadurch mit das Flüssig - bleiben des Blutes im Gefäßsystem ermöglichen. Es wird deshalb von R a t n o f f (53) und R a t n o f f und R o s e n b l u m (56) folgende Hypothese vorgeschlagen: Inhibitoren, die direkt gegen den Hagemann Faktor wirken, sind mitverantwortlich dafür, daß das Blut im Gefäßsystem flüssig bleibt. Kommt Blut in Kontakt mit einer benetzbaren Oberfläche, verläßt der Hagemann Faktor eine gehemmte Stufe und wandelt sich in seine aktive Form um. Ist der Faktor auf diese Weise befreit, leitet er die Gerinnung ein. Er wird aber, einmal aktiv geworden, bald wieder enzymatisch zerstört damit seine weiteren Wirkungen verhütet werden. Beim Hagemann Zeichen kann der Faktor nicht in seine aktive Form übergehen, also die Gerinnung auch nicht einleiten. Daß diese Menschen trotzdem keinerlei Blutungstendenz haben wenn ihr Blut bei einer Verletzung aus dem Gefäß strömt, kann nur dadurch erklärt werden, daß dann ein anderer gerinnungseinleitender Mechanismus an die Stelle des Hagemann Faktors tritt.

III. Eigene Experimente mit dem Hagemann Faktor :

Seit der Entdeckung des Hagemann Faktors vor fünf Jahren ist schon viel über sein Verhalten, über seine Natur wie auch über die Erscheinungen bei seinem Mangel bekannt geworden, obwohl bisher nur relativ wenig derartige Fälle untersucht werden konnten. Man weiß, wie wir gesehen haben, daß er an Oberflächen aktiviert - und wieder enzymatisch zerstört wird, daß er an der Blutthromboplastinbildung beteiligt ist, daß er dem PTA-Faktor ähnlich - und mit dem Glasfaktor identisch ist und anderes mehr. Aber noch nie ist in der Gerinnungsphysiologie über eventuelle Beziehungen zwischen dem Hagemann Faktor und den Thrombocyten berichtet worden. Wir haben uns in dieser Arbeit besonders damit beschäftigt - und die Ergebnisse unserer Experimente weisen tatsächlich auf solche Beziehungen

hin.

In den letzten Jahren wurde, besonders von B o u n a m e a u x, berichtet, daß die geringen Mengen Thrombin, die unmittelbar nach Verletzung des Gefäßendothels durch die Gewebsthrombokinasen bereits aktiviert werden zusammen mit gewissen, schon erwähnten Co-Faktoren, durch Auslösung einer Mikrogerinnung auf der "plaque-tären Hülle" die Viscöse Metamorphose der Plättchen einleiten. Zusätzlich zu dieser neueren Auffassung bestand noch die ältere Ansicht von R o s k a m (57), nach der ohne gewisse Veränderungen der fremden Oberfläche eine Plättchenadhäsivität und -Agglutination an ihr nicht möglich sei. Aus seinen Untersuchungen geht hervor, "daß eine Thrombocytenagglutination auf der Fremdkörperoberfläche nur dann vor sich gehen kann, wenn diese durch vorherige Berührung mit Plasma oder Serum in bestimmter Weise dafür vorbereitet ist". R o s k a m hatte seine Vorstellungen von einer solchen "Obsonisation" auf Grund von Untersuchungen über die Haftfähigkeit von Thrombocyten an Bakterien, Hefen, Kaolin und anderen "Fremdkörperoberflächen" entwickelt. Diese Veränderungen an der fremden Oberfläche sollen durch alle gerinnungshemmenden Mittel verhindert werden. So zum Beispiel durch eine Temperatur um den Eisschmelzpunkt, durch Erhitzen des Plasmas oder Serums auf 56 Grad Celsius oder Versetzen des Plasmas mit Antikoagulantien wie Heparin in ausreichender Konzentration. Roskam teilt aber weiterhin noch die Meinung von B o u n a m e a u x, nach der für die Haftfähigkeit der Thrombocyten besonders die sie umgebende Plasmazone eine Rolle spielt. Er glaubt dabei, daß die Veränderungen an der Fremdoberfläche sich in mancher Hinsicht mit dem Phänomen der "Obsonisation" bei der Phagocytose vergleichen läßt. Unter dem Begriff "Obsonisation" versteht er dabei Bedingungen, die, mit den Vorgängen bei der Phagocytose verglichen, das Anhaften der Plättchen und Bakterien an Oberflächen ermöglichen, die vorher mit Plasma oder Serum behandelt worden waren (10). Solche "obsonisierte Oberflächen" entstehen dabei nach dem Kontakt mit Plasma oder Serum und ermöglichen den Thrombocyten, an ihnen zu haften. Diese "Obsonisation" sollte durch Veränderungen humoraler Komplexe bedingt sein, die analog - wenn nicht überhaupt mit denen der Blutgerinnung identisch zu sein schienen (10). R o s k a m und B o u n a m e a u x haben umfangreiche Untersuchungen über die "Obsonisation" angestellt, konnten aber weder

die physikalisch-chemische Struktur der "obsonisierten Oberflächen", noch die Natur eines eventuellen Plasmafaktors aufdecken, der für die Thrombocytenadhäsivität und -Agglutination verantwortlich wäre. Beide Autoren nahmen jedoch an, daß einerseits zwischen Blutgerinnung und Adhäsivität der Plättchen an fremden Oberflächen und Auflösung der Blutplättchen gewisse Beziehungen bestehen. Roskam und Bounameaux haben in den letzten Jahren die Konzeption von einer Obsonisation der Fremdoberflächen jedoch wieder weitgehend verlassen, da diese noch nicht bestätigt werden konnte (64 a). J. J ü r g e n s konnte inzwischen an Hand von Agglomerationsuntersuchungen von gewaschenen Thrombocyten zeigen, daß es sich bei den sogenannten "obsonisierten Oberflächen" von Roskam sehr wahrscheinlich um das Hagemann-Phänomen handelt - eine Auffassung, die sich sehr gut mit der Vorstellung von einer Mikrogerinnung auf der periplaquettären Hülle in Einklang bringen würde. Nach J. J ü r g e n s sind benetzbare Oberflächen in Anwesenheit von Hagemann Faktor in der Lage, Prothrombin in geringen Spuren zu Thrombin zu aktivieren und damit die Agglomeration der Thrombocyten zu bewirken, während diese Thrombinmengen für die Einleitung der Gerinnung noch nicht ausreichend sind (33 i,j,k,l).

Um diese Verhältnisse weiter aufzuklären, stellten wir eine Reihe von Versuchen an, die in der Hauptsache drei Fragen beantworten sollten:

- I. Hat der Hagemann Faktor einen direkten Einfluß auf die Adhäsivität der Thrombocyten.
- II. Bestehen Beziehungen zwischen ihm und der Plättchenagglutination.
- III. Ist die mangelnde Agglutinabilität der Thrombocyten bei angeborenen Thrombopathien eventuell auf einen Mangel an Hagemann Faktor zurückzuführen.

1. Die Rolle des Hagemann Faktors bei der Plättchenadhäsivität :

In unserer ersten Versuchsreihe wurden zunächst die Thrombocyten eines normalen, plättchenreichen Plasmas im "Wright'schen Rotator" auf ihre Adhäsivität untersucht. Als Antikoagulans wurde Komplexon III-Lösung verwendet.

Herstellung von Komplexon-III-Lösung:(nach J. J ü r g e n s: 33 h)

1,0 g Komplexon-III-Salz wurde mit 10 ml Aqua dest. aufgelöst. Zur

schnelleren Lösung wurde es nötigenfalls kurz erwärmt. Dann wurde so lange n/5 Natronlauge hinzugesetzt, bis ein pH von 7,4 bis 7,6 erreicht war. Die Kontrolle der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte dabei mit Hilfe eines pH-Automaten. Danach wurde mit einem Teil Michaelispuffer (pH = 7,6) und zwei Teilen physiologischer Kochsalzlösung auf 100 ml aufgefüllt.

Herstellung von plättchenreichem Komplexon-III-Plasma:

(Nach J. J ü r g e n s und F.K. B e l l e r: 33 f). Zur Blutentnahme verwendeten wir eine etwas größere innenpolierte V₂A-Kanüle. Die Spritze selbst wurde vorher gründlich mit Vaselinum album eingefettet und mit 1 ml der Komplexon-III-Lösung gefüllt. Dann wurden 9 ml Venenblut eines normalen Spenders aufgezogen und mit der Komplexon-III-Lösung durch mehrmaliges Kippen gut durchgemischt. Dem Blut wurde dann noch zwecks besserer Sedimentierung der Erythrocyten 0,9 ml Periston zugesetzt. Dann zentrifugierten wir 6 Minuten lang bei 1000 Umdrehungen in einem gut siliconierten Zentrifugenglas. Eventuelle Schlieren zusammengeballter Erythrocyten im überstehenden Plasma wurden durch vorsichtiges weiteres Zentrifugieren entfernt. Das plättchenreiche Plasma wurde schließlich mit einer siliconierten Pipette in ein anderes siliconiertes Röhrchen überführt, aus dem ein Tropfen Plasma entnommen wurde, dessen Plättchen nach der üblichen Methode der Leukocytenzählung in einer Thoma-Kammer ausgezählt wurden.

Adhäsivitätsbestimmung:

Zur Adhäsivitätsbestimmung der Thrombocyten wurden 0,5 ml des plättchenreichen Komplexon-III-Plasmas in einen unsiliconierten Glaskolben (Wright'scher Rotator) überführt, der 15 Minuten lang gedreht wurde. Um immer bei einer konstanten Temperatur von 37° C arbeiten zu können, bedienten wir uns eines größeren mit Wasser gefüllten Glasbehälters. Sein Wasser konnte durch eine automatisch sich ein- und ausschaltende Temperaturregelungsanlage in jeder gewünschten Temperatur gehalten werden. Für eine gleichmäßige Verteilung des erwärmten Wassers sorgte ein sich ständig drehender Propeller. Mit diesem Gerät, das wir in der Abbildung 3 aufgezzeichnet haben, werden in unserem Labor alle Gerinnungsanalysen durchgeführt. Bei den Adhäsivitätsbestimmungen wurde nun ein kleiner elektrischer Motor an der einen Wand des Glasbehälters befestigt, mit dessen Hilfe der Wright'sche Rotator langsam und

gleichmäßig 15 Minuten lang gedreht wurde. Der Motor war schwenkbar, sodaß der an ihm befestigte Glaskolben tief in das auf 37°C erwärmte Wasser eintauchen konnte.

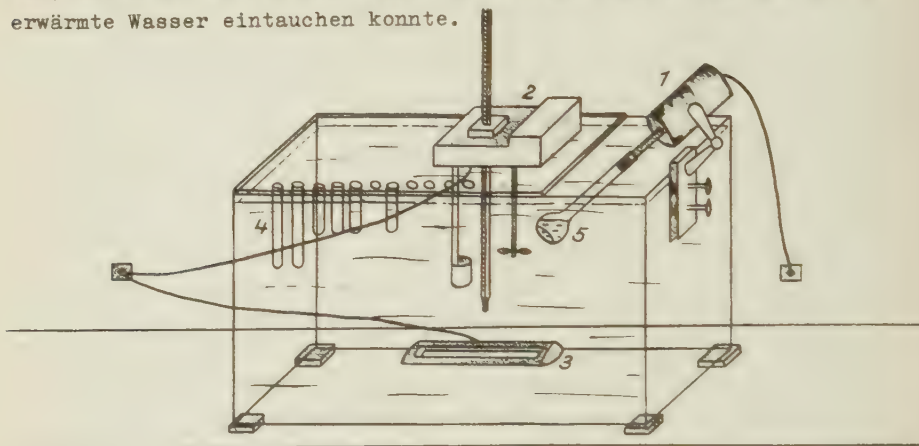


Abb. 3 : Versuchsanordnung der Adhäsivitäts- und Agglutinationsbestimmungen.

Erklärung:

1. Elektrischer Motor zur Drehung des Glaskolbens
2. Automatische Temperaturregelung
3. Lichtquelle
4. Reagenzgläser für andere Gerinnungsanalysen
5. Drehendes Rotationsgemisch im Wright'schen Rotator

In dieser Weise haben wir auch die Agglutinationsversuche durchgeführt, auf die wir später noch zu sprechen kommen werden. Im Abstand von 5 Minuten wurde dann von uns jeweils der Motor abgestellt, eine Plasmaprobe aus dem Glaskölbchen entnommen und die Thrombocyten nach der oben angegebenen Methode ausgezählt. Nach einer gewissen Zeit beobachteten wir, besonders nach weiteren Versuchen mit diesem Plasma, eine Anzahl von Agglutinaten bei den Plättchenzählungen in der Kammer. Da aber in ihnen die Zellgrenzen noch relativ gut zu erkennen waren, haben wir alle diese Thrombocyten nach Möglichkeit mitgezählt. Es hat sich aber dabei wohl nicht vermeiden lassen, daß trotzdem zuweilen weniger Plättchen ausgezählt wurden als tatsächlich vorhanden gewesen sein dürften. Dieser Fehler wurde aber weitgehend dadurch ausgeglichen, daß ebenfalls größere Thrombocytentrümmer mitgezählt wurden.

Wir haben jeweils mehrere Versuche dieser Art gemacht, in den Abbildungen aber nur zwei in die Kurve eingezeichnet und zwar die mit den höchsten und niedrigsten Plättchenzahlen. Alle anderen

Werte liegen in dem Areal zwischen den beiden Kurven. Es wurde auch immer nur ein großes Quadrat der Zählkammer ausgezählt, nicht etwa die ganze Kammer. Diese Zahlen stehen rechts neben der Kurve. Man sieht an ihnen, daß sich nach den ersten 5 Minuten Rotationsdauer die Thrombocyten im Plasma erheblich vermindert haben. In der Kurve der Abbildung 4 kommt es als Ausdruck des zahlreichen Anhaftens der Plättchen an den Wänden des Wright'schen Rotators zu einem starken Abfall der Kurve.

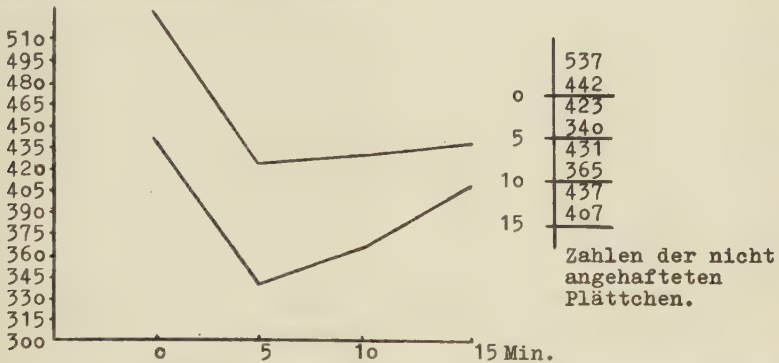


Abb. 4 : 0,5 ml normales plättchenreiches Plasma wird in einem un-siliconierten Kolben rotiert.

Nach 5 Minuten ist dieser Abfall aber schon beendet, die Kurve flacht sich ab und geht sogar wieder in die Höhe. Letzteres hat seine Ursache in der Thrombocytenfragilität, durch die vermehrt Bruchstücke erscheinen. Interessant ist dabei die Beobachtung, daß sich nach den ersten 5 Minuten offenbar keine weiteren Plättchen mehr an die Oberfläche des Glases anhefteten und somit nicht alle Thrombocyten trotz der doch relativ langen Rotationsdauer die Eigenschaft der Adhäsivität aufweisen.

In späteren Versuchen kommen wir wieder auf diese Beobachtung zurück und werden versuchen, sie zu erklären.

Zunächst sei damit nur festgestellt, daß die Plättchen in einem Plasma in den ersten 5 Minuten der Kontaktnahme reichlich an der fremden Oberfläche hängen bleiben. Als Ausdruck dieser Tatsache verringern sich die Plättchenzahlen im Plasma und die Kurve fällt stark nach unten ab.

Wenn wir nun annehmen wollen, daß der Hagemann Faktor im Plasma die Ursache für dieses Phänomen der Plättchenadhäsivität an der Glaskolbeninnenwand ist, muß zunächst in einem weiteren Leerver-

versuch eine Suspension gründlich gewaschener Plättchen ohne Plasmasatz alleine rotiert werden, um die möglichst von ihrer periplaquettären Hülle freigewaschenen Thrombocyten auf Abwesenheit von Gerinnungsfaktoren zu prüfen. Solche Thrombocyten suspensionen zeigten tatsächlich alleine niemals eine Agglomerationsneigung. Wie wir schon im Allgemeinen Teil gesehen haben, ist zur Adhäsivität der Plättchen, sowie für die Viscöse Metamorphose unbedingt Prothrombin nötig, das an der Thrombocytenoberfläche adsorbiert wird. Wir versuchten also in einem weiteren Versuch zur Thrombocyten suspension noch gereinigtes Prothrombin hinzuzufügen. Dabei verwendeten wir ein gereinigtes Prothrombin der Firma la Roche, das nach der Methode von Soulier hergestellt worden war. Weiter wissen wir noch, daß der Hagemann Faktor durch Oberflächenkontakt aktiviert und vermutlich an der Oberfläche adsorbiert wird. Wahrscheinlich wird dabei diese Oberfläche derart verändert, das an ihr die Plättchen anhaften können.

Wir behandelten daher vor Rotation einer Plättchensuspension den Glaskolben mit Hagemann-Serum, das keinen anderen Gerinnungsfaktor als den Hagemann Faktor enthielt. Wir schwenkten das Serum tüchtig im Kolben und schütteten es wieder aus. Jetzt mußten genügend Mengen Hagemann Faktor an der Oberfläche des Kolbens adsorbiert worden sein.

Herstellung gewaschener Plättchen nach Hitzig :

(Zitat nach J.J ü r g e n s und F.K.B e l l e r: 33 g). Aus der Cubitalvene eines normalen Spenders werden 10 ml Blut entnommen, Nach den oben schon gegebenen Angaben wird daraus ein plättchenreiches Komplexon-III-Plasma hergestellt. Hierbei zentrifugiert man 20 Minuten lang mit 500 Umdrehungen, um die Plättchen möglichst zu schonen. Werden dann noch vereinzelt Erythrocyten im Plasma beobachtet, so wird dieses bei 4 Grad Celsius so lange im Bisschrank stehen gelassen, bis auch sie völlig sedimentiert sind. Das überstehende plättchenreiche Plasma wird abgehoben und in ein 50-ml-Großzentrifugenglas überführt. Dabei wird immer nur siliconiertes Glasmaterial verwendet. Das Plasma wird nun 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, die 10% der hergestellten Komplexon-III-Lösung enthält und 10 Minuten lang bei 4000 Umdrehungen scharf zentrifugiert. Danach finden sich die Thrombocyten als weißer Niederschlag auf der Kuppe der Zentrifugengläser. Die überstehende Flüssigkeit wird verworfen und auf diese Weise

4 Mal verfahren. Bei der letzten Waschung suspendiert man den Thrombocytenniederschlag mit physiologischer Kochsalzlösung ohne Zusatz von Komplexon-III-Lösung.

Herstellung von Hagemann-Serum:

Nativblut eines normalen Spenders wird eine halbe Stunde bei 37°C im Brutschrank stehen gelassen, das Serum abpipettiert und kurz zentrifugiert, um die Schlieren zu entfernen. 1 ml Serum wird mit 0,1 ml Aluminiumhydroxyd ($\text{Al}(\text{OH})_3$) adsorbiert, kräftig einige Zeit geschüttelt und 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Das über dem grauweißen Sediment stehende Serum wird abgehoben und im Wasserbad 10 Minuten lang auf 65°C erhitzt. Nach Abkühlung ist das Serum zum Behandeln der Rotationsglaskolben verwendungsfähig.

In unserem Versuch wird jetzt nach Kontakt mit Hagemann-Serum der Glaskolben mit 2 ml Plättchensuspension gefüllt und 0,5 ml der gereinigten Prothrombinlösung der Firma la Roche hinzugegeben. Diese Mischung ließen wir in der üblichen Weise 15 Minuten lang rotieren, zählten die Plättchen wie im vorigen Versuch (Abb. 4) und zeichneten aus den erhaltenen Zahlen eine Kurve, die in Abbildung 5 wiedergegeben wird.

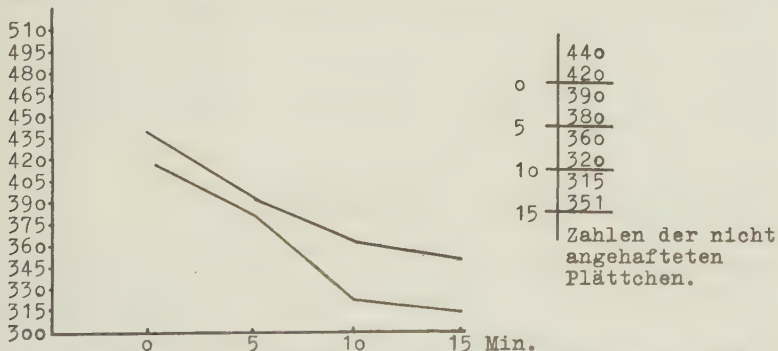


Abb. 5 : 4 Mal gewaschene Plättchen in phys. NaCl-Lösung werden mit gereinigtem Prothrombin in einem normalen Glaskolben rotiert, der vorher mit Hagemann-Serum behandelt wurde.

Wie man in der Abbildung 5 sieht, ähnelt die Kurve dieses Versuches in auffälliger Weise der Kurve in Abbildung 4. Es findet auch hier eine starke Plättchenadhäsivität statt - und nicht nur in den ersten 5 Minuten der Drehungszeit, sondern auch weiterhin, wenn sie dann auch merklich in ihrer Intensität abnimmt. In den letzten 5 Minuten ist kaum noch ein Anhaften der Plättchen an der Glasober-

fläche festzustellen. Dieser Versuch kann nur so gedeutet werden, daß enge Beziehungen zwischen dem Hagemann Faktor und den Thrombocyten bestehen und zwar in der Weise, daß der Faktor ihre Adhäsivität an fremden Oberflächen veranlaßt. Auf welche Weise der Hagemann Faktor hier eingreift, läßt sich nicht feststellen. Es wäre jedoch denkbar, daß der an der Glasoberfläche adsorbierte Hagemann Faktor das an der Plättchenoberfläche adsorbierte Prothrombin, das wir ja den gewaschenen Plättchen zugegeben hatten, in Thrombin umgewandelt hat. Dieses Thrombin bewirkt nun ein Klebrigwerden der an der Glasoberfläche vorbeistreichenden Plättchen und so haften sie dort an.

Diese Eigenschaft der Thrombinbildung in der periplaquetären Hülle wurde auch der inaktiven Vorstufe des Prokonvertins beigemessen, wie im Allgemeinen Teil schon berichtet wurde. Durch Oberflächenkontakt soll es in aktives Prokonvertin umgewandelt werden, das mit Ca und Gewebeextrakt Konvertin bildet und so geringe Mengen Prothrombin in Thrombin umwandelt. Offenbar spielt sich gleichzeitig mit diesem ersten Mechanismus der Thrombinbildung die Auslösung der Plättchenadhäsivität durch den Hagemann Faktor ab, die bisher noch nicht beschrieben wurde.

In unserem Versuch hatten wir ein Milieu, das völlig frei von Prokonvertin und Gewebeextrakt sowie anderer Gerinnungsfaktoren war mit Ausnahme von Faktor VIII und Fibrinogen. Diese beiden Faktoren sind nur außerordentlich schwer von der Thrombocytenoberfläche zu entfernen, an der sie adsorbiert sind.

a) Die Inaktivierung des Hagemann Faktors :

Wenden wir uns jetzt einem Phänomen zu, das wir schon in den Kurven der beiden letzten Abbildungen beobachten konnten: der Verminderung der Hagemann Faktor-Aktivität während der Rotation im Glaskolben. In der Abbildung 4 konnten wir bei normalem Plasma in den ersten 5 Minuten die stärkste Plättchenadhäsivität beobachten. Dann verminderte sie sich aber ziemlich schnell, beziehungsweise ging ganz zurück. Es zeigten überhaupt nicht alle Plättchen die Eigenschaft der Adhäsivität.

Diese Tatsache geht noch besser aus einem weiteren Versuch hervor (Abb.6). Bei ihm verwendeten wir das schon einmal 15 Minuten lang rotierte normale Plasma (beschrieben in Abb.4), überführten es un-

mittelbar nach Beendigung der Drehung in einen neuen, unsilico - nierten Glaskolben, ließen wieder eine Viertelstunde den Motor laufen und zählten die Plättchen. Die Kurve, die dabei entstand, ist in Abbildung 6 zu sehen:

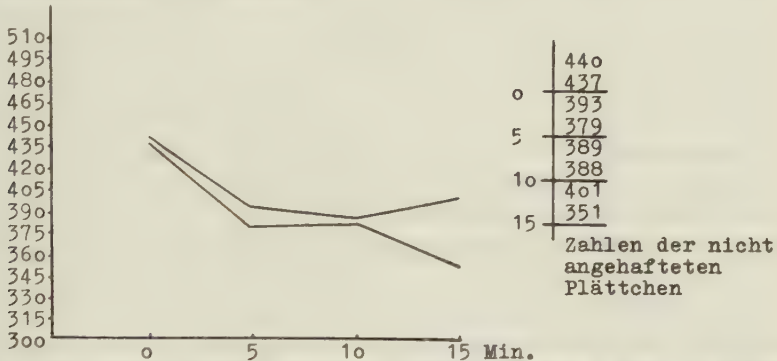


Abb. 6 : Das schon einmal rotierte Plasma von Abb.4 wird in einem neuen, unsiliconierten Glaskolben zum zweiten Male rotiert.

In der Abbildung 6 ist deutlich zu erkennen, daß der Plättchenabfall bei einem alten Plasma, das schon einmal Glaskontakt gehabt hatte, viel langsamer vor sich geht als bei einem frischen Plasma. Die Kurve hier ist viel flacher als auf Abbildung 4, das heißt die Plättchenadhäsivität ist viel geringer. Vergleichen wir beide Abbildungen miteinander, so sehen wir, daß die Kurve auf Abbildung 4 nach den ersten 5 Rotationsminuten einen Abfall von 537 auf 423 Plättchen in einem großen Kammerquadrat aufweist, während die oberste Kurve in Abbildung 6 nur einen Abfall von 440 auf 393 Thrombocyten zeigt, also auf nicht einmal die Hälfte verglichen mit der Abbildung 4. Wir stellen somit fest, daß die Plättchenadhäsivität eines plättchenreichen Plasmas, das schon einmal Glaskontakt gehabt hatte, um mehr als die Hälfte geringer ist, als bei einem frischen Plasma, das diesem Glaskontakt noch nicht ausgesetzt war.

Ähnliche Beobachtungen hat schon R o s k a m (10) bei seinen Obsonisationsversuchen gemacht. Er sah, daß immer ein gewisser Prozentsatz von Plättchen nicht fixiert wurde und war deshalb der Meinung, daß Serum oder Plasma eine begrenzte Obsonisationskraft besitze. Unsere Versuche würden somit die Obsonisationstheorie von R o s k a m in gewisser Hinsicht bestätigen. Wir wollen aber in diesem Zusammenhang von nun an nicht mehr von "Obsonisation" sprechen, sondern nur noch von

der Plättchenadhäsivität, die auf irgendeine Weise vom Hagemann Faktor ausgelöst wird.

Wie kommt es aber zur Verminderung dieser Wirkung des Hagemann Faktors? Das schon einmal rotierte Plasma zeigte ja bei neuerem Glaskontakt eine geringere Wirkung des Faktors. Es verhielt sich so, als ob nur ganz wenig Hagemann Faktor an der Glasoberfläche adsorbiert sei.

Überprüfen wir das mit unserer bereits einmal rotierten Thrombocyten suspension, über die wir in Abbildung 5 berichtet hatten: Wir nehmen dazu wieder einen neuen Glaskolben, der jetzt nicht mit Hagemann Serum behandelt wurde. Im Kolben befindet sich daher nur Prothrombin und Plättchen. Die Drehung und Plättchenzählung erfolgt wie bei den vorigen Versuchen.

Wie die Kurve in Abbildung 7 zeigt, kommt es hier zu keiner nennenswerten Plättchenadhäsivität. Der geringfügige Kurvenabfall in den ersten 5 Minuten ist im Vergleich zu dem stetigen Fortschreiten der Plättchenadhäsivität in der frischen Suspension in Abbildung 5 unbedeutend und kann vernachlässigt werden. Ohnehin verläuft ja die Kurve nahezu parallel. Wir erklären das damit, daß die Aktivität des Hagemann Faktors schnell abnimmt und nehmen an, daß ohne einen aktiven Hagemann Faktor eine Plättchenadhäsivität nicht möglich ist.

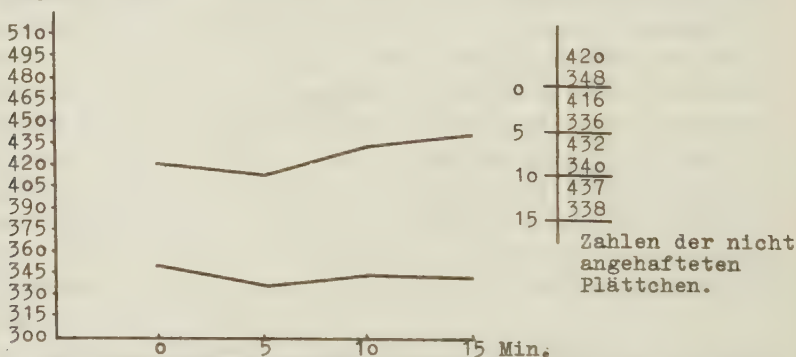


Abb. 7 : Die schon einmal rotierte Plättchensuspension von Abb.5 wird in einem neuen, unsiliconierten Kolben zum zweiten Male rotiert. Der Kolben wurde vorher nicht mit Hagemann Serum behandelt.

Wie kommt es aber zu dieser Verminderung der Hagemann-Wirkung? Dazu stehen nur zwei Möglichkeiten offen:

1. Der Hagemann Faktor wird nach längerem Oberflächenkontakt und

Auslösung der Plättchenadhäsivität verbraucht.

2. Der Hagemann Faktor wird durch Glaskontakt aktiviert und bewirkt die Plättchenadhäsivität, dann wird aber die aktive Stufe wieder inaktiviert und die Adhäsivität der Plättchen geht zurück. Wir glauben, daß eher die letzte Möglichkeit zutrifft, daß also der Hagemann Faktor durch irgendeine Substanz wieder inaktiviert wird. Damit schließen wir uns der Meinung von R a t n o f f (53) an, über die schon vorher berichtet wurde.

b) Ein möglicher Inhibitor gegen den aktiven Hagemann Faktor :

In der Abbildung 8 wird über einen Versuch berichtet, den wir zur Klärung dieser Frage durchführten. Wir verwendeten diesmal ein altes, unsiliconiertes Glaskölbchen, in dem schon vorher einmal ein plättchenreiches Plasma rotiert worden war. Dieser Kolben wurde nach Weggießen des rotierten Plasmas drei Mal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült und dann wieder mit einem frischen, plättchenreichen Plasma angefüllt, das noch keinen Glaskontakt gehabt hatte. Dieses Plasma wurde wieder in der üblichen Weise rotiert und seine Plättchen gezählt. Die Kurve ist in der Abbildung 8 zu sehen.

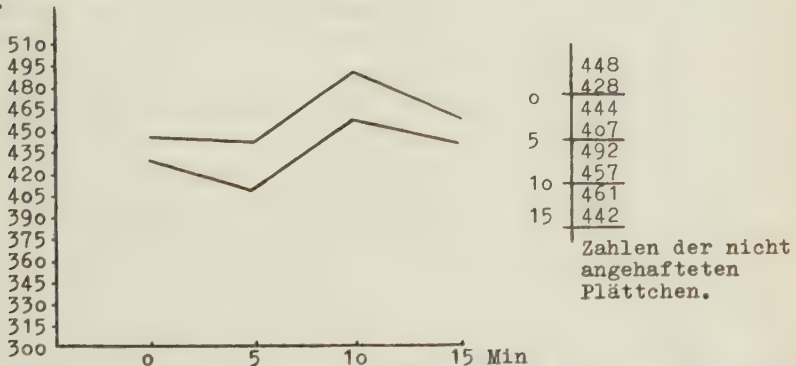


Abb. 8 : Frisches, plättchenreiches Plasma wird in einem alten Glaskolben rotiert, in dem vorher schon Plasma gedreht worden war. Nach Weggießen des alten Plasmas wurde der Kolben drei Mal mit physiol. NaCl-Lösung ausgewaschen.

Wenn man sich diese Kurve betrachtet, stellt man fest, daß es zu überhaupt keinem Plättchenabfall gekommen ist. Mit anderen Worten heißt das, es hat keine Thrombocytenadhäsivität an der Kolbeninnenwand stattgefunden. Zwar stiegen mit zunehmender Rotationsdauer die

Plättchenzahlen wieder an, aber das zeigt nur, daß die raue Kolbenwand wohl eine zunehmende Zertrümmerung der Plättchen hervorrief, jedoch nicht mehr ihr Anhaften. Der erneute Kurvenabfall in den letzten 5 Rotationsminuten ist nicht etwa auf eine erneut einsetzende Hagemann-Aktivität zurückzuführen. In dieser Zeit beginnt schon langsam die Agglutination der Plättchen, auf die wir später noch zu sprechen kommen und die hier eine Verminderung der Thrombocytenzahlen bedingt. - Aber wie ist hier die fehlende Adhäsivität zu erklären? Es wurde doch mit dem normalen, frischen Plasma auch wieder neuer Hagemann Faktor zugeführt. Der alte, an der Glaswand des gebrauchten Kolbens adsorbierte Faktor sollte ja durch das Abspülen entfernt werden. Warum wirkte jetzt aber der frische Faktor nicht? Verbraucht konnte er nicht sein, und die erste, oben aufgezeigte Möglichkeit schied deshalb für uns aus. Wir haben uns das nur auf folgende Weise klar machen können:

Zusammen mit der Aktivierung des Hagemann Faktors an der Innenfläche des Glaskolbens mußte sich im Plasma der Abbildung 4 eine Substanz gebildet haben, die die aktive Hagemann Stufe wieder inaktiviert. Diese Substanz konnte vorher höchstens in einer inaktiven Vorstufe im Plasma vorgelegen haben und mußte erst durch den von der Glasoberfläche aktivierten Hagemann Faktor in eine aktive Form umgewandelt worden sein. Da das eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt kann inzwischen der aktivierte Hagemann Faktor das Anhaften der Plättchen auslösen, die der Glasoberfläche nahe kommen, an der ja der Faktor adsorbiert ist. Das haben wir an den Kurven der Abbildungen 4 und 5 sehen können. Infolge der zunehmenden Menge aktiven Hagemann Faktors wird durch ihn aber auch gleichzeitig immer mehr von dieser Substanz aktiviert, die ihrerseits nun wieder den aktiven Hagemann Faktor zerstört. Die Plättchenadhäsivität wird also langsam abnehmen. Auch das haben Abbildung 4 und 5 gezeigt. Ebenfalls kommt es in der Abbildung 6 zum Ausdruck. In diesem Versuch (Abb.6) hatte sich in dem alten Plasma, das zum zweiten Male rotiert wurde, schon vom ersten Mal her, genügend dieser aktiven Substanz gebildet und die aktive Hagemann Stufe weitgehend zerstört. Die Plättchenadhäsivität mußte deshalb in dem Versuch geringer sein. Wir glauben, daß diese Substanz mit dem Plasmaenzym identisch ist, das von R a t n o f f (53) beschrieben worden ist und das ebenfalls die Eigenschaft hat, den Hagemann Faktor zu zerstören.

Aber wir haben immer noch keine Erklärung dafür, warum in Abbildung 8 kein Anhaften der Plättchen eintrat. Wir stellten uns vor, daß diese unbekannte Plasmasubstanz zusammen mit dem Hagemann Faktor auch an der Glasoberfläche des Wright'schen Rotators adsorbiert worden sein muß - und zwar so fest, daß sie nicht einmal durch dreimaliges Abspülen mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt werden konnte. Wenn wir also, wie im Versuch der Abbildung 8, frisches Plasma in den alten Kolben bringen, muß sich wohl durch Glaskontakt wie vorhin wieder aktiver Hagemann Faktor entwickeln, die Plasmasubstanz aber braucht durch ihn nicht erst langsam gebildet zu werden, sie ist ja schon, adsorbiert an der Glasoberfläche, vorhanden. So zerstört sie jetzt entweder sofort den durch Kontakt aktiv werdenden Faktor oder hindert ihn überhaupt daran, daß er sich an der Glasfläche aktiviert. Wenn diese Hypothese richtig ist, wird es auch verständlich, daß das frische, plättchenreiche Plasma im Versuch der Abbildung 8 keine Thrombocytenadhäsivität zeigen konnte.

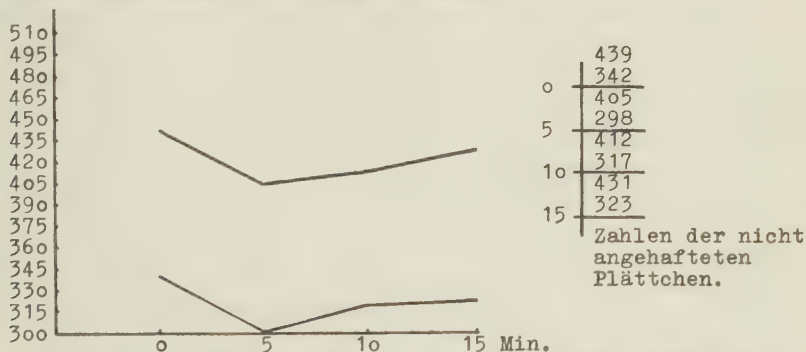


Abb. 9 : 4 mal gewaschene Plättchen in phys. NaCl-Lösg. werden mit gereinigtem Prothrombin in einem alten Glaskolben rotiert, in dem schon vorher eine Plättchensuspension gedreht worden war. Nach Weggießen der alten Suspension wurde der Kolben drei Mal mit phys. NaCl-Lösg. ausgespült.

Zur Kontrolle haben wir den gleichen Versuch wie in Abbildung 8 auch mit der reinen Plättchensuspension durchgeführt.

Zu diesem Zwecke stellten wir uns 2 ml einer neuen Plättchensuspension her, versetzten sie mit 0,5 ml der gereinigten Prothrombinlösung, verwendeten aber den alten Kolben vom ersten Plättchensuspensionsversuch (Abb. 5) und wuschen auch diesen wieder drei Mal mit physiologischer Kochsalzlösung aus, bevor wir ihn mit der frischen Plättchensuspension füllten. Dann wurde wieder rotiert, die

Plättchen gezählt und eine Kurve gezeichnet, die in Abbildung 9 wiedergegeben wird.

Vergleichen wir wieder die beiden Kurven der Abbildung 8 mit den Kurven auf Abbildung 9, so sehen wir in der letzten Abbildung in den ersten Rotationsminuten einen deutlichen, wenn auch geringen Abfall. In Abbildung 8 ist von einem Abfall aber praktisch nicht die Rede. Es sieht hier fast so aus (Abb.9), als ob die den Hagemann Faktor zerstörende Substanz im Serum in geringerer Konzentration vorhanden ist als im Plasma. Es bleibt aber auch in der Abbildung 9 weiter deutlich, daß die Plättchenadhäsivität nur gering ist, also die Aktivität des Hagemann Faktors im Vergleich zur Abbildung 5 deutlich geschwächt ist.

Zur Vollständigkeit dieser Versuchsreihe haben wir noch zwei weitere Experimente unternommen, die wir gleich zusammen beschreiben wollen: Bei dem einen (Abb.10) verwendeten wir das Plasma der in den Abbildungen 4 und 6 dargestellten Versuche, also ein Plasma, das schon zwei Mal rotiert worden war und füllten es in einen ebenfalls gebrauchten Kolben, der wieder vor Rotation drei Mal mit physiologischer Kochsalzlösung gespült wurde. Die Kurve ist in der Abbildung 10 zu sehen. Dasselbe machten wir auch mit unserer schon rotierten Thrombocyten suspension von Abbildung 5 und 7, drehten sie in einem, vorher ausgespülten Kolben noch einmal und zeichneten die Kurve in Abbildung 11.

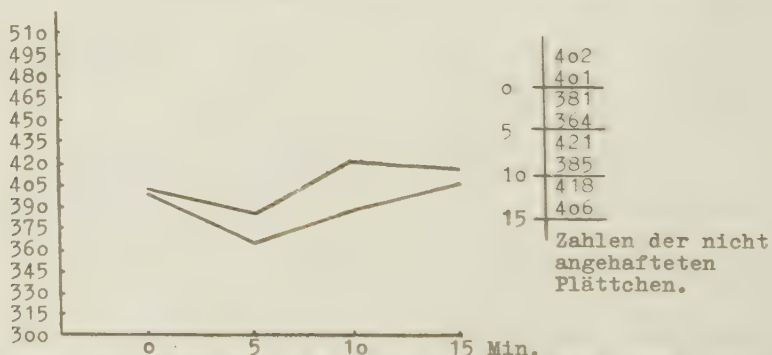


Abb. 10 : Das 2 Mal rotierte alte Plasma von Abb.4 und 6 wird in einem alten, auch schon verwendeten Kolben, erneut gedreht. Vorher wurde der Kolben drei Mal mit phys.NaCl-Lösg. gespült.

Die beiden Abbildungen 10 und 11 zeigen, wie es jetzt auch nicht anders zu erwarten ist, keine Plättchenadhäsivität. In Abbildung

10 ist sie geringgradig vorhanden, in der Abbildung 11 überhaupt nicht mehr. Sollte jetzt durch den neuerlichen Glaskontakt noch Hagemann Faktor aktiviert worden sein, das wäre ja immerhin möglich, so muß er hier mit Leichtigkeit sofort durch die zerstörende Substanz inaktiviert werden können. Sie hatte sich ja in den beiden vorangegangenen Rotationsversuchen in ausreichender Menge bilden können und befindet sich jetzt unabwaschbar an der Glasoberfläche adsorbiert.

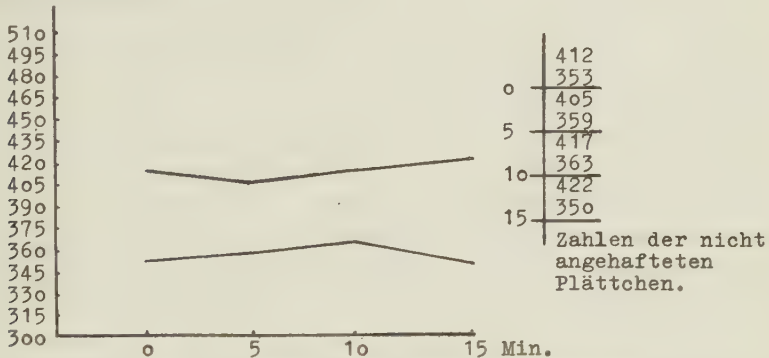


Abb. 11 : Die 2 Mal rotierte alte Thrombocyten suspension von Abb. 5 und 7 wird in einem alten auch schon verwendeten Glaskolben überführt und erneut gedreht. Kolben vorher drei Mal mit physiol. NaCl-Lösung gespült.

Diese feste Verbindung der unbekannten Plasmasubstanz mit der Glasinnenfläche des Kolbens, auf die wir vorhin schon hingewiesen hatten, läßt uns fordern, in Zukunft nur einwandfrei saubere Glaskölbchen für Thrombocytenadhäsivitätsbestimmungen zu verwenden. Unserer Meinung nach verdienen nur solche Kölbchen dieses Prädikat, die eine Zeitlang mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure behandelt worden sind.

c) Vergleich der Hagemann-Inaktivierung mit einem ähnlichen Mechanismus in der Blutgerinnung:

Wir haben im letzten Abschnitt dieser Arbeit eine Hypothese aufgestellt, die etwas verwickelt erscheint. Die benetzbare Glasoberfläche aktiviert einen Faktor aus seiner inaktiven Vorstufe in die aktive Form. Diese setzt ihrerseits eine andere Substanz in Freiheit, die sich nun gegen den Faktor richtet, dem sie erst ihre Entstehung verdankt. Erscheint diese Vorstellung nicht ein

bißchen konstruiert? Gibt es so etwas überhaupt in der Blutgerinnung?

Im Allgemeinen Teil haben wir bereits über die Autokatalyse des Thrombins gesprochen. Die verschiedensten Reaktionen, die zu seiner Bildung beitragen, führen schließlich zu einem lawinenhaften Ansteigen der Thrombinkonzentration, wie wir gesagt haben, die sogar zu einer Gefahr für den ganzen Organismus werden kann. Aber jetzt wird die erstaunliche Tatsache offenbar, daß sich das Blut selbst - und eigenartig genug - noch durch das Thrombin dazu, vor dessen Überschwemmung schützt. Das geschieht dadurch, daß das Thrombin bei anwachsender Konzentration eine andere Substanz aus ihrer inaktiven Vorstufe in die aktive Form überführt, nämlich Fibrinogen in Fibrin. Und indem so die anwachsenden Thrombinmengen die Fibrinbildung veranlassen, zerstört sich das Thrombin gleichsam selbst. Denn das Fibrin, das doch auch erst ihm seine Entstehung verdankt, hat die Eigenschaft, große Thrombinmengen zu adsorbieren. Auf diese Weise wird die Gerinnung auf das verletzte Gefäßgebiet beschränkt und daran gehindert, sich diffus weiter auszubreiten.

Auf Grund dieser Überlegungen erscheint unsere Hypothese von der Inaktivierung des Hagemann Faktors gar nicht mehr so konstruiert. Vielmehr bekommt sie jetzt einen viel tieferen Sinn als es anfangs scheinen wollte.

Zwangsläufig drängen sich uns jetzt Vorstellungen auf, was wohl geschehen könnte, wenn der Hagemann Faktor nicht inaktiviert würde. - Durch das an der verletzten Endothelstelle vorbeiströmende Blut würde immer neuer Hagemann Faktor aktiviert - und so vermutlich auch an anderen Endothelstellen eine Plättchenadhäsivität auslösen. Als Prädispositionsstellen dafür kämen besonders atheromatöse Herde in Frage, sklerosierte Gefäßbezirke, weit weg vom eigentlichen Verletzungsgebiet, die sich ja in gewissen Gefäßabschnitten schon frühzeitig ausbilden können. Unter Umständen könnten sich dort sogar Thromben entwickeln, die, vom Blutstrom losgerissen, zu Gehirn-, Lungen-, oder Niereninfarkten führen könnten. Aber wir wollen in unseren Vorstellungen nicht zu weit gehen, ist doch unsere Darstellung dieser Dinge noch eine Hypothese, die vieler Versuche bedarf, um ihre endgültige Klärung herbeizuführen.

d) Einfluß des Heparins auf die Aktivität des Hagemann Faktors:

Wir haben uns auch noch mit der Frage beschäftigt, ob die Wirkung des Hagemann Faktors auf den Beginn der Plättchenadhäsivität durch Zusatz eines Antikoagulans in irgendeiner Weise beeinflusst wird. Bei Erwähnung der Obsonisation haben wir schon auf die Beobachtung Roskams hingewiesen, daß die Obsonisation durch Zusatz von Antikoagulantien verhindert wird. Trifft das auch auf die Wirkung des Hagemann Faktors zu?

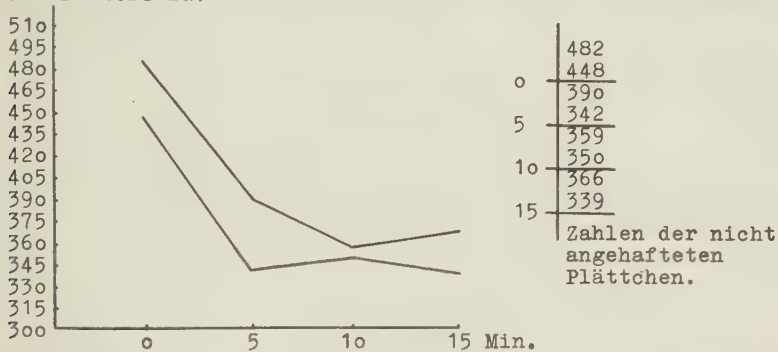


Abb. 12 : 0,5 cm³ normales, frisches, plättchenreiches Heparinplasma wird in einem unsiliconierten Kolben rotiert (entspricht der Abb. 4).

In weiteren Experimenten, analog denen, die in den vorigen Abschnitten beschrieben wurden, haben wir das zu klären versucht. Wir arbeiteten der Einfachheit halber dabei wieder mit Plasma, da wir es als schon erwiesen erachteten, daß es der Hagemann Faktor in ihm ist, der die Plättchenadhäsivität hervorruft. Als Antikoagulans verwendeten wir dabei Heparin. In genau der gleichen Weise wie bei den Versuchen, die in den Abbildungen 4, 6, 8 und 10 dargestellt sind, ließen wir wieder 0,5 ml eines plättchenreichen, normalen Komplexon-III-Plasmas im Wright'schen Rotator eine Viertelstunde lang drehen und zählten im Abstände von 5 Minuten die Thrombocyten aus. Dem Plasma setzten wir aber diesmal Heparin zu und zwar kamen auf 1 ml Plasma 2 Einheiten Heparin. Im ersten Versuch dieser Art, der mit der Abbildung 4 zu vergleichen ist, machten wir das mit frischem Plasma, das noch keinem Oberflächenkontakt ausgesetzt worden war. Die Kurve wird in Abbildung 12 gezeigt. Wie vorher in Abbildung 4 sieht man auch sofort am Kurvenverlauf der Abbildung 12, daß es in den ersten 5 Minuten der Rotation zu einer starken Thrombocytenadhäsivität gekommen ist. Dann flacht sich

auch hier die Kurve wieder ab als Zeichen der langsamen Inaktivierung des durch Glaskontakt aktiv gewordenen Hagemann Faktors. Es konnte also kein Unterschied im Adhäsivitätsgrad des normalen Plasmas in Abbildung 4 und des normalen aber heparinisierten Plasmas in Abbildung 12 festgestellt werden.

Das nächste Experiment entspricht genau dem, das in der Abbildung 6 dargestellt ist. Wie auch dort ließen wir das eben rotierten Heparinplasma der Abbildung 12 in einem neuen, unsiliconierten Glaskölbchen ein zweites Mal drehen und zeichneten die Kurve der Thrombocytenzahlen auf. Sie ist in Abbildung 13 wiedergegeben.

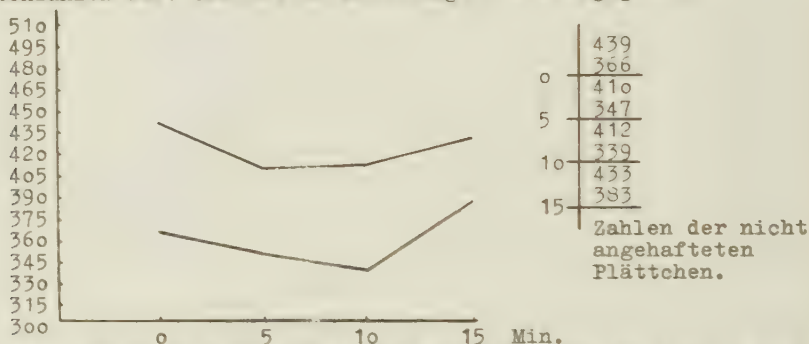


Abb. 13 : Das schon einmal rotierte Heparinplasma von Abb.12 wird in einem neuen, unsiliconierten Kolben erneut gedreht. (entspricht der Abb.6)

Vergleichen wir die Abbildungen 6 und 13 miteinander, so sehen wir wieder die große Ähnlichkeit der beiden Kurvenverläufe. In ihrem nur mäßigen Abfall zeigt sich bei den beiden unterschiedslos die bereits schon stark inaktivierte, im vorhergehenden Rotationsversuch aktiv gewordene Hagemann-Stufe, die sich jetzt in einer Verminderung der Plättchenadhäsivität auswirkt.

Wir konnten also auch in diesem Versuch keine Einwirkung des Heparins auf die Wirkung des Hagemann Faktors feststellen.

Der Vollständigkeit halber haben wir noch die beiden nächsten Versuche dieser Reihe aufgezeichnet(Abbildung 14 und 15), die ebenfalls das völlig unterschiedslose Verhalten eines heparinisierten gegenüber einem normalen Plasma bestätigen. Sie liefern schließlich noch einen weiteren Beweis für die Richtigkeit unserer Auffassung über die Aktivierungs- und Inaktivierungsvorgänge des Hagemann Faktors. So kommt es - Versuch der Abbildung 14, der dem in Abbildung 8 dargestellten Experiment entspricht, beinahe noch eindrucksvoller zum Ausdruck, wieviel hagemannzerstörende Substanz

sich an der Glasoberfläche des Kolbens schon adsorbiert haben muß. Genau wie in der Abbildung 8 kommt es auch hier in Abbildung 14 zu keiner Plättchenadhäsivität.

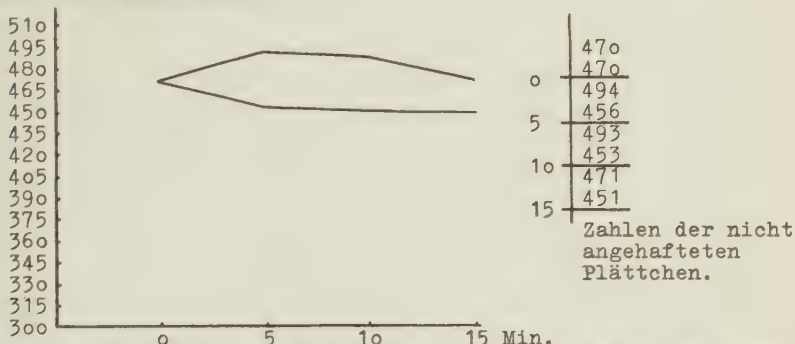


Abb. 14 : Frisches, plättchenreiches Heparinplasma wird in einem alten Glaskolben rotiert, mit dem schon vorher Plasma gedreht worden war. Nach Weggießen des alten Plasmas wurde der Kolben 3 Mal mit phys. NaCl-Lsg. ausgespült. (entspricht der Abb.8)

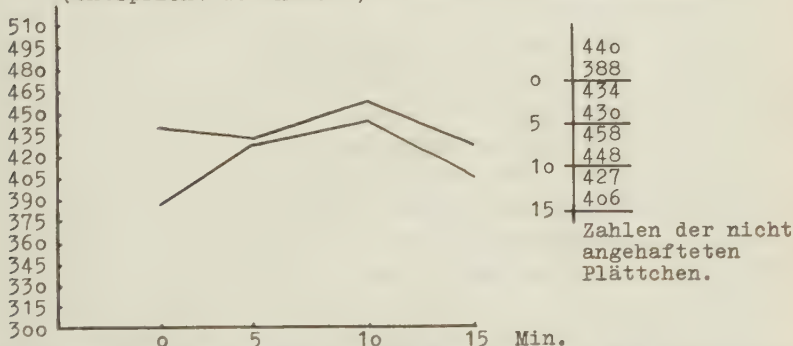


Abb. 15 : Das zwei Mal rotierte alte Heparinplasma von Abb.12 und 13 wird in einem alten, auch schon verwendeten Kolben erneut gedreht. Vorher wurde der Kolben 3 Mal mit phys. NaCl-Lsg. gespült (entspricht der Abb.10).

Der letzte Versuch in Abbildung 15, der in seinem Kurvenverlauf wieder stark seinem analogen Versuch mit nicht heparinisiertem Plasma (Abbildung 10) ähnelt, beweist gleichfalls noch einmal, daß die Hagemann-Inaktivierung vollständig erfolgt ist. Eine Plättchenadhäsivität kommt also nicht zustande.

Durch die vier letzten geschilderten Versuche konnten wir somit den Beweis erbringen, daß durch Zusatz von Heparin die Wirkung des Hagemann Faktors auf das Anhaften der Plättchen am Glas nicht beeinträchtigt wird. Ein heparinisiertes Plasma wird also die glei-

che Plättchenadhäsivität zeigen wie ein normales Plasma.

Eigentlich wundert uns diese Tatsache, und sie steht offenbar überhaupt nicht in Einklang mit unserer früher erwähnten Vorstellung über die Art der Auslösung der Plättchenadhäsivität durch den Hagemann Faktor. Wir sagten, daß vermutlich der Hagemann Faktor eine Umwandlung des an der Thrombocytenoberfläche adsorbierten Prothrombins in Thrombin hervorruft. Durch das Thrombin werden die Plättchen klebrig und können so am Glase anhaften. Wenn das stimmt, müßte eigentlich dieser Mechanismus durch Zusatz von Heparin verhindert werden, denn das Heparin zählt ja zu den wichtigsten Antithrombinen überhaupt. Warum zeigt es aber hier nicht seine hemmende Wirkung auf die Thrombinentstehung?

Zur Deutung dieses Phänomens verweisen wir wieder auf unseren Allgemeinen Teil. Dort zeigten wir die ungemein günstigeren Bedingungen der Thrombinbildung auf, wenn sie sich an der Thrombocytenoberfläche vollzieht. Wir gaben die Auffassung Lüscher's wieder, nach der man sich recht gut eine Thrombinentwicklung am Thrombocyten überhaupt vorstellen könnte, ohne daß sie im umgebenden Plasma nachzuweisen wäre. Als Begründung nannte er einerseits die Thrombinhemmstoffe des Plasmas, die an der Thrombocytenoberfläche völlig fehlen, andererseits aber auch die Thrombocytenfaktoren, die die Thrombinbildung beschleunigen oder einen Antithrombineffekt direkt neutralisieren können. Für diese letzte Funktion ist der Thrombocytenfaktor 4 verantwortlich, der eine starke, gegen das Heparin gerichtete Wirkung entfaltet. Durch ihn wird das Heparin also an der Plättchenoberfläche neutralisiert werden und es kann deshalb nicht mehr hemmend in die Thrombinbildung eingreifen, die durch den Hagemann Faktor innerhalb der Plättchenatmosphäre ausgelöst wird. Auf diese Weise erklären wir uns auch den völlig fehlenden Einfluß des Heparins auf die Adhäsivität der Plättchen in unseren vier letzten Versuchen.

Zusammenfassend läßt sich also folgendes sagen:

Offenbar wird das Prothrombin in der periplaquettären Hülle derjenigen Thrombocyten durch den Hagemann Faktor in Thrombin umgewandelt, die der Glasinnenfläche des Wright'schen Rotators zu nahe kommen, an der ja der Faktor adsorbiert ist. Dieser Aktivierungsvorgang scheint ohne Calcium vonstatten gehen zu können, soweit sich dieses nicht interzellulär in den Thrombocyten selbst befindet und kann infolge Anwesenheit des Thrombocytenfaktors 4 in der

Plättchenatmosphäre nicht durch Heparin verhindert werden.

2. Die Rolle des Hagemann Faktors bei der Plättchenagglutination :

In der Absicht, unsere Meinung über bestehende Beziehungen zwischen dem Hagemann Faktor und den Thrombocyten zu begründen, haben wir in Abschnitt 1 des Speziellen Teiles die Auslösung der Plättchen-adhäsivität durch den Hagemann Faktor untersucht - und auch nachweisen können.

Die zweite Aufgabe, die wir uns gestellt haben, befaßt sich mit den Einflüssen des Faktors auf die Thrombocytenagglutination. Die Vermutung über derartige Zusammenhänge erschien uns nicht abwegig, sind ja Adhäsivität und Agglutination zwei nahe verwandte Phänomene. Wir gingen dabei von der Fragestellung aus, kann der Hagemann Faktor in einem Milieu, das mit Ausnahme von Spuren Faktor VIII und Fibrinogen völlig frei von anderen Gerinnungsfaktoren ist, und nur eine dichte Suspension gewaschener Plättchen in physiologischer Kochsalzlösung nebst gereinigtem Prothrombin enthält, eine Agglutination der Plättchen bewirken?

Wir haben schon bei den Adhäsivitätsversuchen im vorigen Abschnitt kurz auf die Agglutinatsbildung hingewiesen, die wir nach einer längeren Rotationsdauer beobachten konnten. Sie rief einen erneuten Abfall der Kurve der Plättchenzahlen hervor, der nun nicht durch erneute Adhäsivität der Plättchen an der Kolbenwand bedingt war. Wir konnten das einwandfrei feststellen, sind aber auf diese Agglutinatsbildungen noch nicht näher eingegangen. Jetzt wollen wir uns ausführlich mit dieser Frage beschäftigen.

Wir führten drei Versuche durch, in denen wir nachweisen konnten, daß der an der Glasoberfläche adsorbierte Hagemann Faktor die Thrombocytenagglutination in Gang bringt.

Für den ersten Versuch stellten wir uns wieder nach der schon beschriebenen Methode ein Hagemann Serum her, das keinen anderen Gerinnungsfaktor enthielt. Selbst der PTA-Faktor wurde durch Erhitzen des Serums auf 65 Grad Celsius zerstört. Der Hagemann Faktor hält ja bekanntlich eine Temperatur bis zu 70 Grad Celsius aus.

Versuch 1 :

Das Hagemann Serum wurde in ein normales Glasröhrchen gefüllt, in dem wir vorher gründlich im Säurebad gereinigte Glaswolle verteilt

hatten. Durch nicht all zu langes Schütteln sorgten wir für eine ausreichende Kontaktaktivierung des Hagemann Faktors, nahmen dann 0,5 ml dieses aktivierten Serums und gaben es in einen Glaskolben, den wir schon vorher mit 0,5 ml einer vier Mal gewaschenen Plättchensuspension und mit 0,5 ml der gereinigten Prothrombinlösung angefüllt hatten. Jetzt wurde der Glaskolben wie bei den Adhäsivitätsversuchen wieder gedreht und wir warteten die Agglutination der Plättchen ab.

Es muß noch hinzugefügt werden, daß wir bei allen drei Agglutinationsversuchen die Zeit des Eintritts der Agglutination nicht genau mit der Stoppuhr festgestellt haben. Ebenfalls können wir die Zeit vom Augenblick der Aktivierung des Hagemann Faktors durch die Glaswolle bis zur beginnenden Rotation der Plättchenmischung im Glaskolben nur ungenau angeben. Gerade das wäre aber wichtig gewesen. Wir haben nämlich diese Experimente ganz zu Anfang ausgeführt und erst später die Adhäsivitätsbestimmungen. Durch sie bekamen wir aber erst einen Einblick in die ganz neuartigen Aktivierungsvorgänge des Hagemann Faktors, auf die wir hingewiesen haben. Wir sind jetzt zwar in der Lage, manches über diese Vorgänge aussagen zu können, finden sie auch in den Agglutinationsversuchen bestätigt, aber wir hätten doch gern diese drei letzten Experimente noch einmal ausgeführt, um auch an ihnen durch genaue Zeitstoppung die Beständigkeit der aktiven Hagemann Stufe zu untersuchen. Das war uns leider durch den Mangel an gereinigtem Prothrombin nicht möglich. Im ersten Versuch wurde also unmittelbar nach Aktivierung des Faktors das Serum in den Wright'schen Rotator überführt und mit der Plättchensuspension, sowie dem gereinigten Prothrombin gedreht. Wir konnten dann nach etwa 15 Minuten Drehung im Licht einer hellen Laborlampe deutlich eine Thrombocytenagglutination im Glaskolben feststellen. Ebenfalls waren deutlich größere und kleinere Agglutinate unter dem Mikroskop zu beobachten. Bei allen waren die Zellgrenzen der einzelnen Plättchen noch relativ gut erkennbar. Wir konnten also mit diesem Versuch nachweisen, daß der Hagemann Faktor auch die Agglutination der Thrombocyten auslöst, wenn er auch dazu längere Zeit benötigt als ein normales Plasma, das alle Gerinnungsfaktoren enthält.

Versuch 2 :

Im zweiten Versuch dieser Art stellten wir uns wieder ein Hage-

mann Serum her, das wir aber im Unterschied zum vorigen vom Versuch 1 vor der Adsorption an Aluminiumhydroxyd und vor Erhitzung auf 65 Grad Celsius dem Kontakt mit der Glaswolle aussetzten. Nach dieser Hagemann-Aktivierung, die wieder wie vorhin durch ein kurzes und kräftiges Schütteln des Serums im Glaswolle-Röhrchen erfolgte, vergingen so bis zur beginnenden Rotation des bekannten Gemisches im Glaskolben mindestens 10 Minuten allein durch die Zentrifugierung während der Adsorption an das Aluminiumhydroxyd und mindestens weitere 13 Minuten durch die Erhitzung und die nachfolgende Abkühlung des Serums im Eisschrank. Also erst nach etwa 25 Minuten nach Aktivierung des Hagemann Faktors begannen wir mit der Rotation im Glaskolben. Wir mußten auch eine entsprechend lange Zeit warten, bis hier die Agglutination eintrat. Erst nach weit über einer halben Stunde Drehung konnten wir im Mikroskop die ersten kleinen Agglutinate nachweisen. Sie waren deutlich von einigen wenigen gereizten Leukocytenformen zu unterscheiden, die wir bei einigen Proben mit in der Kammer hatten, waren aber auch nicht größer als diese. Makroskopisch konnten wir im durchfallenden Licht der hellen Laborlampe überhaupt nichts von einer Agglutination wahrnehmen.

So wird durch diesen zweiten Agglutinationsversuch wieder die Tatsache bestätigt, daß der aktivierte Hagemann Faktor nur eine begrenzte Zeit funktionstüchtig bleibt, daß er langsam wieder inaktiviert werden muß.

Während im ersten Versuch der Hagemann Faktor unmittelbar nach seiner Kontaktaktivierung mit der dichten Plättchensuspension zusammengebracht worden war und da ziemlich bald, schon nach etwa 15 Minuten, ihre Agglutination veranlaßt hatte, zeigte sich hier im zweiten Versuch, wie er schon viel von seiner Aktivität verloren hat.

Wir verweisen in diesem Zusammenhang noch einmal auf die Adhäsivitätsversuche im Abschnitt 1: Das Plasma in der Abbildung 4 hatte noch keinen aktiven Hagemann Faktor. Er bildete sich erst während der Rotation durch den Glaskontakt mit dem Kolben. Das gleiche Plasma wird dann in Abbildung 6 noch einmal gezeigt. Da hatte der Faktor schon wesentlich an Aktivität verloren, obwohl nur eine Viertelstunde nach der ersten Kontaktaktivierung vergangen war. In der Abbildung 10 ist das Plasma schließlich zum letzten Male untersucht worden, also nach etwa 30 Minuten Rotation - und da zeig-

te es praktisch überhaupt keine Hagemann-Aktivität mehr. Die gleiche Beobachtung machten wir auch bei der reinen Plättchensuspension im Hagemann-behandelten Kolben, nur, daß es uns da schien, als ob die Inaktivierung des Faktors langsamer vor sich gehe als im Plasma. - Also hier wie da die gleiche Erscheinung einer langsamen Inaktivierung des Hagemann Faktors durch eine Substanz, die erst durch seine aktive Stufe gebildet worden sein mußte.

Versuch 3:

In diesem letzten Agglutinationsversuch ging es uns noch einmal um die Frage der Aktivierung des Hagemann Faktors an Glasoberflächen. Im Adhäsivitätsversuch der Abbildung 4 fanden wir sofort eine Hagemann-Aktivität, ebenfalls in unserem ersten Agglutinationsexperiment. Wenn es also tatsächlich die Glasoberfläche des Wright'schen Rotators ist, die diese Aktivierung des Faktors hervorruft, dann dürfte eine Agglutination der Thrombocyten durch ihn nicht zustandekommen, wenn die Glasoberfläche unbenetzbar gemacht wird. So verwendeten wir also in unserem dritten Versuch schon zur Herstellung des Hagemann Serums ausschließlich hochsiliconiertes Glasmaterial. Auf diese Weise verhinderten wir jede Aktivierung des Hagemann Faktors an der benetzbaren Oberfläche. Ebenfalls benutzten wir zur Rotation ein einwandfrei siliconiertes Glaskölbchen, ließen in ihm die bekannte Hagemann Serum-Plättchen-Prothrombin-Mischung rotieren und warteten wieder die Agglutination ab. Nach einer Dreiviertelstunde Drehung etwa hielten wir den Motor an - und konnten immer noch kein einziges Agglutinat im Mikroskop feststellen.

Vers.	Kontaktaktivierung	Glasmaterial	Rot.-Dauer	Agglutination
1	erst Adsorbtion dann Kontakt	unsiliconierter Kolben	15 Min.	+
2	erst Kontakt dann Adsorbtion	unsiliconierter Kolben	30 Min.	(+)
3	Adsorbtion, aber keinen Kontakt	hochsiliconierter Kolb.	45 Min.	-

Abb. 16 : Zusammenstellung von drei Agglutinationsversuchen im Wright'schen Rotator.

Es ist also tatsächlich so, daß der Hagemann Faktor aus einer inaktiven Vorstufe erst durch eine benetzbare Glasoberfläche in seine aktive Form umgewandelt wird und dann in der Lage ist, die

Agglutination und Adhäsivität der Thrombocyten einzuleiten. Wenn wir die Ergebnisse unserer Versuche zusammenfassen, kommen wir zu folgenden Schlußfolgerungen (Abb.18). Der inaktive Hagemann Faktor wird durch Kontakt mit benetzbaren Oberflächen aktiviert und teilweise von ihnen adsorbiert. Die aktive Form wandelt jetzt im Plasma und von der Oberfläche aus das Prothrombin der "periplaquettären Hülle" in geringe Mengen Thrombin um. Dadurch werden die Plättchen klebrig und haften an den Wänden an - die Viscöse Metamorphose wird eingeleitet. Diese Reaktion an der

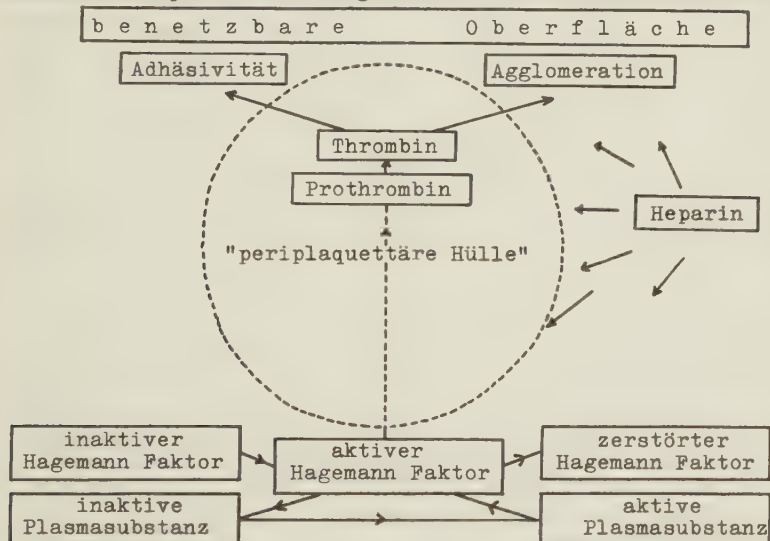


Abb. 17 : Schema der Wirkung benetzbarer Oberflächen auf die Auflösung der Plättchenadhäsivität und Agglomeration (Visc. Metamorphose) über die Aktivierung des Hagemann Faktors.

Plättchenoberfläche ist ohne Ca möglich und wird durch Heparin nicht verhindert. Die zunehmende Menge aktiven Hagemann Faktors wandelt gleichzeitig eine andere Plasmasubstanz in ihre aktive Form um, die sich jetzt gegen den Hagemann Faktor richtet. Er wird durch sie zerstört und Adhäsivität wie Agglomeration gehen nach einiger Zeit wieder zurück. Diese Inaktivierung des Faktors ist unserer Meinung nach ein sehr wichtiger Vorgang und stellt einen Selbstschutz des Blutes vor Thrombenbildungen weit ab von der eigentlichen Endothelläsion dar. Zum Beispiel in arteriosklerotisch veränderte Gefäßgebiete verschleppt, wäre dann der Hagemann Faktor nicht mehr in der Lage, eine hier recht gefährliche

Agglutination und Adhäsivität der Thrombocyten einzuleiten.

3. Ein möglicher Hagemann Faktor-Mangel bei verschiedenen

hereditären Thrombopathien :

Zum Schluß dieser Arbeit haben wir uns noch mit der Möglichkeit befaßt, ob die funktionellen Störungen im Plättchensystem bei Thrombopathien, die ja hauptsächlich in einer gestörten Adhäsivität und Agglutination zum Ausdruck kommen, eventuell auf einen Mangel an Hagemann Faktor zurückzuführen sind. Wir hatten leider unter den vielen Patienten keinen einzigen Fall von nachgewiesenem Hagemann Zeichen und konnten deshalb bei so einem Kranken unsere Adhäsivitäts- und Agglutinationsversuche nicht durchführen, obwohl uns das sehr interessiert hätte.

Wir hatten bei den folgenden Untersuchungen, die an einer Reihe Patienten mit meist wohl angeborenen Thrombopathien durchgeführt wurden, das Ziel vor Augen, nur einen bloßen Hinweis auf einen möglichen Hagemann Faktor-Mangel zu geben. Deshalb begnügten wir uns auch mit ganz einfachen Untersuchungen, die aber in dieser Richtung unseres Erachtens noch nirgends durchgeführt worden sind. Es ist durchaus möglich, daß die Agglutinations- und Adhäsivitätsstörungen, die immer auf ein Versagen der Thrombocyten zurückgeführt wurden, in Wirklichkeit am Mangel des Hagemann Faktors liegen, der diese Plättchenfunktion erst in die Wege leitet, wie wir in den vorigen Abschnitten nachzuweisen versuchten. Um diese Frage also wenigstens aufzuwerfen, haben wir sieben Patienten untersucht.

Fall 1 : Dabei handelte es sich um eine junge Patientin mit einer Thrombopathie Typ Glanzmann-Naegeli.

Befunde: Adhäsivität herabgesetzt, Agglutination meist normal, Retraktion gestört, ebenfalls die Thrombusfestigkeit, die Blutungszeit war verlängert. Dazu bestanden morphologische Veränderungen im qualitativen Plättchenbild mit Mikro- und Makrothrombocytose, Granulopyknose, Wurst- und Schlauchformen der Plättchen.

Fall 2 : Ebenfalls eine Patientin mit schwerer Leberparenchymschädigung und erheblichen Plättchenfunktionsausfällen.

Befunde: Adhäsivität gleich null, ebenfalls die Agglomeration. Die Patientin hatte eine Zentralvenenthrombose.

Fall 3 : Ein Patient mit einer Thrombopenie und Thrombopathie,

vielleicht hereditär. Dazu kam eine Leberparenchymschädigung.

Befunde: Adhäsivität und Agglomeration gleich null.

Fall 4 : Patient mit einer familiären Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens.

Befunde: Stark verminderte Adhäsivität. Es bestand Nasenbluten und Blutungen nach Zahnextraktionen.

Fall 5 : Ein junger Patient mit möglicherweise konstitutionell-familiär bedingten typischen Thrombopathie, die durch anatomische Abnormitäten der Hirngefäße verstärkt wurde. Angiographisch konnten multiple Aneurismen nachgewiesen werden.

Befunde: Leichte Plättchenschädigung, Gerinselfestigkeit geringgradig reduziert. Es kam zu einer Subarachnoidalblutung. Zusätzlich bestand eine Lungentuberkulose.

Fall 6 : Ein Patient mit einer hereditären konstitutionellen Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens. Es handelte sich dabei um eine leichte Form.

Befunde: Adhäsivität vermindert, Agglutination negativ, normale Plättchenzahl, erhöhte Blutungsbereitschaft.

Fall 7 : Eine Patientin mit einer funktionellen Minderwertigkeit der Plättchen. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um eine angeborene Thrombopathie. Familiäre Belastung war nicht sicher nachzuweisen. Daneben bestand Verdacht auf eine hämorrhagische Diathese mit Störungen der plasmatischen Gerinnungsfaktoren

Befunde: Agglutination normal, Adhäsivitätsbestimmung nicht durchgeführt, Plättchenzahlen vermindert, Gerinnungszeit normal, Blutungszeit eineinhalb Minuten, verminderte Gerinselfestigkeit. Es kam vorübergehend zu stärkeren gynäkologischen Blutungen.

Art der durchgeführten Versuche:

Wir machten lediglich zwei ganz einfache Experimente: für die erste Untersuchung stellten wir uns eine vier Mal gewaschene Plättchensuspension normaler Thrombocyten her und ließen sie zusammen mit dem pathologischen, plättchenfrei gemachten Plasma im bekannten unsiliconierten Glaskolben 20 Minuten lang rotieren. Dann stellten wir fest, ob Agglutination eintrat oder nicht.

Im zweiten Versuch gingen wir umgekehrt vor: jetzt wuschen wir die pathologischen Plättchen vier Mal, brachten sie wie oben in Suspension mit physiologischer Kochsalzlösung, stellten uns diesmal ein plättchenfreies, normales Plasma her und ließen wieder beides im Wright'schen Rotator 20 Minuten lang drehen und warteten die Agglutination ab. Als Antikoagulans wurde in beiden Versuchen wieder Komplexon-III-Lösung verwendet. Die bei den sieben Patienten erhaltenen Agglutinationsergebnisse sind in der Abbildung 17 zusammengestellt.

Fall:	<u>Gemisch a</u> pathol. Plasma gesunde Plättch.	<u>Gemisch b</u> gesundes Plasma pathol. Plättch.	Art der Thrombopathie
1	-	-	Typ Glanzmann-Naegeli
2	+	-	Leberparenchymschaden
3	-	+	Leberparenchymschaden und Thrombopenie
4	-	+	Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens
5	(+)	+	Konstitutionell-familiäre Thrombopathie
6	(+)	+	Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens
7	+	+	Angeborene Thrombopathie

Abb. 18 : Agglutinationsbestimmungen bei 7 Patienten mit Thrombopathien. 20 Min. zusammen rotiert wurden: gesunde Plättchen und pathologisches Plasma (Gemisch a) und pathologische Plättchen und gesundes Plasma (Gemisch b).

Besprechung der Versuchsergebnisse:

Falls das Plättchenversagen bei verschiedenen Thrombopathien tatsächlich auf einen Mangel an Hagemann Faktor zurückzuführen sein sollte, müßten wir eigentlich erwarten, daß bei der Rotation des Gemisches a entweder gar keine oder nur geringe Agglutination eintritt, während das "Gemisch b" agglutinieren müßte, wenn nicht eine direkte Plättchenschädigung vorliegt. Bei vier der untersuchten sieben Patienten ist das auch tatsächlich der Fall. Die Fälle 3 und 4 zeigen im "Gemisch a" überhaupt keine Agglutination, die Fälle 5 und 6 eine auch mikroskopisch kaum wahrnehmbare. Im "Gemisch b" jedoch agglutinierte jeder dieser 4 genannten Fälle. Besonders zu bemerken ist dabei die Tatsache, daß sich darunter auch die beiden Patienten mit der Thrombopathie nach Willebrand-Jürgens befinden.

den, nämlich die Fälle 4 und 6. wie man weiß, ist das klinische Bild dieser Erkrankung der Hämophilie sehr ähnlich, die Morphologie der Plättchen ist im Gegensatz zu ihrer Funktion nur sehr wenig verändert - und die Diskussion über die Frage, ob es sich bei dieser Thrombopathie wirklich um eine Plättchenschädigung handelt ist noch nicht abgeschlossen. Die zufällige Beobachtung, daß gerade das Plasma unserer beiden einzigen Fälle dieses gleichen Typs einer Thrombocytenkrankung bei den Versuchen mit gesunden Plättchen keine oder nur äußerst geringe Agglutination zeigte, die pathologischen Plättchen mit gesundem Plasma aber eindeutig agglutinierten, könnte zumindest als ein Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen über einen möglichen Mangel an Hagemann Faktor bei der Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens genommen werden. Mehr wollten wir auch von vornherein mit diesen wenigen und einfachen Untersuchungen nicht sagen. - Beim Fall 5, der ebenfalls im "Gemisch a" eine kaum nachweisbare Agglutination zeigte, handelte es sich ebenfalls um eine konstitutionell-familiäre Thrombopathie, beim Fall 3 liegt eine Leberparenchymschädigung vor und auch eine eventuell hereditäre Thrombocytenkrankung. Die Tatsache, daß auch die Plasmen dieser beiden letzten Fälle keine Agglutination der gesunden Plättchen bewirkten, die pathologischen Thrombocyten aber mit gesundem Plasma eine eindeutige Agglutination zeigten, läßt ebenfalls die Möglichkeit für weitere Versuche in der genannten Richtung offen. - Im Fall 1 rechneten wir von Anfang an kaum mit einem Ausgang des Versuches in der Art der vier genannten Fälle, hatten wir es doch hier mit eindeutig schweren morphologischen Plättchenveränderungen zu tun, die hier wohl alleine für das Zusammenbrechen ihrer Funktion verantwortlich sind. Daß aber im "Gemisch a" die gesunden Plättchen mit dem pathologischen Plasma ebenfalls nicht agglutinierten, könnte seine Ursache auch in einem plasmatischen Faktormangel, wenn nicht gar des Hagemann Faktors haben. - Im Fall 2 müssen eindeutig die Plättchen geschädigt sein. Man erkennt das an der deutlichen Agglutination im "Gemisch a", die im "Gemisch b" nicht zustandekommen konnte, da eben die pathologischen Plättchen versagten. Schließlich ist noch der Fall 7 zu besprechen: Hier ist es in beiden Plättchengemischen zu einer Agglutination gekommen. Das weist darauf hin, daß die Plättchen selbst noch in der Lage sind, zu agglutinieren und daß hier auch ein Mangel an Hagemann Faktor nicht vorliegen kann.

C) Z u s a m m e n f a s s u n g

Im Allgemeinen Teil versuchten wir einen Einblick in die Vorgänge der Vorphase der Blutgerinnung zu ermöglichen. Wir beschrieben, daß die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin von zwei Thrombokinase ausgelöst wird. Zunächst bildet sich, durch Kontakt mit der verletzten Gefäßintima blitzschnell aus einem gerinnungsaktiven Gewebeextrakt, den Faktoren V, VII, dem Stuard-Prower-Faktor und Calcium eine Gewebsthrombokinase, die, unabhängig von den Thrombocyten- und Antihämophiliefaktoren, geringe Mengen Prothrombin zu Thrombin aktiviert. Die Thrombinmengen, die durch dieses sogenannte "extrinsic"-Gerinnungssystem in komplizierten Reaktionsabläufen gebildet werden, genügen, die Viscöse Metamorphose der Plättchen einzuleiten. Sie liefern dabei unter anderem den Thrombocytenfaktor 3, der sich nun an der Bildung eines zweiten Systems beteiligt, des "intrinsic"-Gerinnungssystems. Die Blutthrombokinase, die dabei entsteht, bildet sich im Verlaufe einiger Minuten aus den Faktoren VIII, IX, X, dem PTA- und dem Hagemann Faktor und greift ebenfalls in die Thrombinbildung ein. Es kommt jetzt immer mehr zu Veränderungen an den Plättchen, die schließlich vollkommen zerstört werden (Viscöse Metamorphose). Nach Bounameaux kommt es innerhalb einer am Thrombocyten adsorbierten Plasmahülle, der "periplaquettären Hülle", die aus Ca und Prothrombin, sowie den Faktoren VII, VIII, IX, X, Fibrinogen und einiger Co-Faktoren besteht, zu einer Mikrogerinnung. Dadurch werden die Plättchen klebrig, haften aneinander und bilden schöne, deutlich sichtbare Agglutinate unter dem Mikroskop, in denen die Plättchen bald nicht mehr als selbständige Zellen zu erkennen sind. Im Verlaufe dieser Viscösen Metamorphose geben die Plättchen die Thrombocytenfaktoren ab, die in die verschiedensten Gerinnungsabläufe eingreifen. Das lawinenhafte Ansteigen der Thrombinkonzentration wird schließlich durch Fibrin blockiert welches das Thrombin adsorbiert. So bleibt die Thrombinbildung auf die verletzten Gefäßgebiete beschränkt.

Im Speziellen Teil beschrieben wir einen durch den Hagemann Faktor ausgelösten Mechanismus, der ebenfalls an der initialen Thrombinbildung in der "periplaquettären Hülle" mitbeteiligt ist und die Thrombocytenaggregation und Agglutination auslöst. Der Hagemann Faktor wurde 1955 von Ratnoff und Colopy bei routinemäßig vorgenommenen präoperativen Gerinnungsanalysen drei-

er Patienten entdeckt. Auffallend war die verlängerte Gerinnungszeit, die verlängerte Recalcifizierungszeit und ein gestörter Prothrombinverbrauch bei völlig fehlender Blutungsanamnese. Es stellte sich heraus, daß der Mangel des noch unbekannten Faktors autosomal vererbt wird und daß es sich um einen Plasmafaktor handelt, der sehr schnell verbraucht oder zerstört wird. Weiter wurde festgestellt, daß der Faktor nicht durch Bariumsulfat adsorbiert wird, daß er sehr lagerungs- und hitzebeständig ist, daß er in einer säureunlöslichen Globulinfraktion enthalten ist und daß er sich an der Thromboplastinbildung beteiligt. Die nahe Verwandtschaft mit dem PTA-Faktor wurde untersucht und die Identität mit dem von Lewis und Merchant beschriebenen Glasfaktor bewiesen. Der Hagemann Faktor läßt sich durch Glas aktivieren und wird durch ein Plasmaenzym wieder zerstört.

Nach J. Jürgens sind benetzbare Oberflächen in Anwesenheit von Hagemann Faktor in der Lage, Prothrombin in geringen Spuren zu Thrombin umzuwandeln und damit die Agglomeration der Thrombocyten zu bewirken. - Wir haben in dieser Arbeit an Hand von Agglomerationsuntersuchungen an gewaschenen Thrombocyten und plättchenreichen Plasmen diese Verhältnisse weiter aufzuklären versucht

Zunächst konnten wir feststellen: läßt man Thrombocyten in einem normalen plättchenreichen Plasma einige Zeit in einem Glaskolben rotieren und zählt man in kurzen Abständen die Plättchen aus entnommenen Plasmaproben, zeigt sich nur in den ersten fünf Minuten der Drehung des Kolbens eine Adhäsivitätsneigung. Später heften sich gar keine Plättchen mehr an den Wänden des Glaskolbens an, es kommt vielmehr zu einer zunehmenden Zertrümmerung. Eine Suspension vier Mal gewaschener Thrombocyten ohne Plasmazusatz zeigt alleine überhaupt keine Adhäsivitäts- und Agglomerationsneigung. Setzten wir jedoch diesen gewaschenen Plättchen gereinigtes Prothrombin hinzu und behandelten wir vorher den Glaskolben mit Hagemann Serum, fanden wir eine starke Plättchenadhäsivität über längere Zeit. In diesem Milieu, frei von Prokonvertin, Gewebeextrakt und anderen Gerinnungsfaktoren mit Ausnahme des Faktors VIII und Fibrinogen bewirkte der an der Glaswand adsorbierte Hagemann Faktor die Aktivierung des Prothrombins. Durch das so entstehende Thrombin wiederum wurden die Plättchen klebrig und hafteten an der Glaswand des Kolbens an.

In einem weiteren Rotationsversuch hoben wir noch einmal die Tat-

sache hervor, wie schnell die Adhäsivitätsneigung der Plättchen nachläßt. Wir ließen schon einmal rotiertes plättchenreiches Plasma ein zweites Mal drehen und beobachteten jetzt nur ganz geringes Anhaften der Thrombocyten. Auch die Plättchensuspension ließen wir noch einmal drehen ohne den Glaskolben mit frischem Hagemann Serum zu behandeln, es kam hier zu gar keiner Adhäsivität. Ist der Hagemann Faktor verbraucht oder inaktiviert worden?

Um diese Frage zu klären, ließen wir in einem Glaskölbchen, in dem schon vorher Plasma rotiert worden war und das jetzt gründlich mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült wurde, abermals ein frisches, plättchenreiches Plasma drehen. Es kam auch hier zu keiner Adhäsivität, nur zu zunehmender Zertrümmerung der Plättchen. Das gleiche Ergebnis erhielten wir auch bei der Thrombocyten suspension. Wir stellten uns vor, daß sich mit der Aktivierung des Hagemann Faktors an der Glaswand zugleich auch eine Substanz aktiviert haben mußte, die den Faktor wieder inaktiviert. Ihre zunehmende Menge zerstört den Faktor wieder und verhindert so nach einiger Zeit die Plättchenadhäsivität. Die letzten Versuche zeigten, daß diese Substanz zusammen mit dem Hagemann Faktor so fest an der Glaswand adsorbiert ist, daß sie trotz dem der Kolben ausgewaschen war, frischen Hagemann Faktor nicht mehr zu Wirkung kommen läßt. Wir sind der Meinung, daß es sich bei dieser Substanz um das von Ratnoff und Margolius beschriebene Plasmaenzym handelt.

Daß ein Gerinnungsfaktor aktiviert und dabei eine Substanz in Freiheit setzt, die ihn selbst wieder zerstört, verglichen wir mit einem ähnlichen Vorgang in der Blutgerinnung. Thrombin aktiviert Fibrinogen. Das entstehende Fibrin adsorbiert seinerseits wieder Thrombin um den Organismus vor dessen Überschwemmung zu schützen.

Um die Frage zu klären, ob ein Antikoagulant die Wirkung des Hagemann Faktors auf die Plättchenadhäsivität beeinflusst, führten wir die gleichen Rotationsversuche wie oben mit einem Heparinzusatz durch. Wir konnten keinerlei Einwirkungen des Heparins feststellen und führten das auf den antithrombinneutralisierenden Effekt des Thrombocytenfaktors 4 zurück. Neben diesen Adhäsivitätsuntersuchungen haben wir auch die Einwirkung des Hagemann Faktors auf die Plättchenagglutination untersucht.

Wir stellten Hagemann Serum her, aktivierten den Faktor durch Schütteln in Glaswolle und gaben Prothrombin und gewaschene Plätt-

chen hinzu. Nach 15 Minuten Drehung des Gemisches im Glaskolben sahen wir makroskopisch im Licht einer hellen Laborlampe und mikroskopisch deutliche Agglutinatbildungen. In einem zweiten Versuch aktivierten wir erst den Faktor im Serum bevor wir durch Adsorption und Erhitzen die übrigen Gerinnungsfaktoren zerstörten. Erst nach etwa 25 Minuten kam hier der Faktor mit den Plättchen zur Rotation. Hier konnten wir nur ganz wenige kleine Agglutinate mikroskopisch nachweisen. Es mußte die Inaktivierung des Faktors also auch hier bereits eingesetzt haben. In dem letzten Versuch dieser Art verwendeten wir bei der Rotation von Hagemann Serum, Prothrombin und Plättchen nur hochsiliconierte Glaskölbchen und konnten erwartungsgemäß überhaupt keine Agglutination feststellen. Der Hagemann Faktor muß also durch eine benetzbare Oberfläche erst aktiviert werden um auf die Plättchen einwirken zu können.

Zum Schluß dieser Arbeit untersuchten wir noch einen möglichen Hagemann Faktor-Mangel bei 7 Patienten mit hereditären Thrombopathien. Wir ließen pathologisches Plasma und gesunde Plättchen, sowie gesundes Plasma und pathologische Plättchen miteinander im Glaskolben rotieren. Auffällig war dabei, daß die gesunden Plättchen von zwei Fällen einer Thrombopathie Typ Willebrand-Jürgens im pathologischen Plasma keine oder nur ganz geringe Agglutination zeigten. Da die Ätiologie gerade dieser Erkrankung noch nicht hinreichend geklärt ist, könnte diese Beobachtung als Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen über einen möglichen Hagemann Faktor-Mangel bei diesen Thrombopathien genommen werden.

Literaturangaben

1. Addis T.:J.Path.Bact.15(1911)427
2. Aggeler P.M.,White S.G.,Glending M.B.,Page E.P.,Leake T.B. u.
Bates B.:Proc.Soc.Exper.Biol.Med.N.Y.79(1956)692
3. Biggs R.,Douglas A.S.u.Macfarlane R.G.:J.Physiol.122(1953)538
4. Biggs R.,Douglas A.S.u.Macfarlane R.G.:J.Physiol.(1953)119
5. Biggs R.,Douglas A.S.u.Macfarlane R.G.:Brit.med.J.(1952)1378
6. Bizzozzerò G.:Virch.Arch.Path.An.:90(1882)261
7. Bordet J.u.Delange L.:Am.Soc.Sc.med.Bruxelles 69(1911)65
8. Bordet J.u.Gengou O.:Ann.Inst.Pasteur 17(1930)822
9. Bounameaux Y.:Revue française Etudes cliniques et biol.2(1957)52
- 10.Bounameaux Y.:Recherches sur l'emplaqnement des surfaces
étrangeres et sur la coagulation sanguine 1958
- 11.Brinkhous K.M.:Proc.Soc.Exper.Biol.Med.N.Y.66(1947)117
- 12.Chargraff E.X.,Bendich A.u.Cohen S.S.:J.biol.chem.156(1944)161
- 13.Conley C.L.,Hartmann R.C.u.Morse W.I.II:J.clin.Invest.28(1949)340
- 14.Deutsch E.,Johnson S.H.,Seegers W.H.:Circulation Res.3(1955)110
- 15.Ebert J.C.u.Schimmelbusch C.:Virch.Arch.Path.An.101(1885)201
- 16.Egli H.:Dtsch.med.Wochenschr.84(1959)2290
- 17.Egli H.u.Klesper R.:Proceedings of the VIIth Internat.Congr.of
the Internat.Soc.of Haematol.Rom 1958 Vol.2
- 18.Feissly R.:Helv.med.Acta 12(1945)215
- 19.Feissly R.:Schweiz.med.Wochenschr.5(1924)81 b
- 20.Fiala S.:Nature 167(1951)279
- 21.Fiala S.:Arch.internat.de Physiol.58(1951)386
- 22.Fiala S.u.Roth K.:Arch internat.de Physiol.61(1953)205
- 23.Flynn J.E.u.Coon R.W.:Amer.J.Physiol.175(1953)
- 24.Fonio A.:Handb.d.ges.Hämatologie 1(1957)313
- 25.Freund E.:Wiener med.Jahrb.(1886)46-48
- 26.Frick P.G.u.Hagen P.S.:J.lab.clin.Med.47(1946)592
- 27.Hartmann R.C.,Conley C.L.u.Lalley J.S.:Bull.Johns Hopkins Hosp.
85(1949)231
- 28.Hirschboeck J.:Proc.Soc.Exper.Biol.Med.45(1940)122
- 29.Hjort P.E.:Scand.J.clin.lab.Invest.9(1957)
- 30.Howell W.H.:Amer.J.Physiol.31(1912)1
- 31.Jim Robert T.S.u.Goldfein Sam:Amer.J.Med.23(1957)824-831
- 32.Johnson S.H.u.Schneider h.L.:Science 117(1953)229
- 33.Jürgens J.u.Beller F.K.:Klinische Methoden der Blutgerinnungsana-
lyse:G.Thieme-Verl.(1959)9

- 33.a.:Seite 10; b.:Seite 11; c.:Seite 26; d.:Seite 26/27;e.:Seite 27; f.:Seite 353; g.:Seite 366; h.:Seite 380;
- 33.i.Baldacci Symposium 1956 und 1960
- 33.j.Symposium on Phlebitis Detroit 1960
- 33.k.Symposium der DAB für Blutgerinnung Bonn 1959
- 33.l.Symposium der DAB für Blutgerinnung München 1960
- 34.Jürgens R.:Handb.d.ges.Hämatologie 1(1957)268
- 35.Koller F.:Schweiz.med.Wochenschr.29(1954)804
- 36.Laker C.S.B.:Akad.Wiss.Wien III.Abt.90(1886)147
- 37.Lenggenhager K.:Zit.in Owren P.A.Oslo J.Chr.Gundersen(1947)53
- 38.Lewis J.H.u.Merchant W.R.:Blood 11(1956)911
- 39.Lewis J.H.,Walters D.,Didisheim P.u.Merchant W.R.:J.clin.Invest.
(1958)1323
- 40.Loizner E.L.,Taylor F.H.L.u.Mac Donald H.:J.clin.Inv.21(1942)241
- 41.Lüscher E.F.:Schweiz.med.Wochenschr.:86(1956)345
- 42.Mann F.D.,Hurn M.u.Magath T.B.:Proc.Soc.Exper.Biol.Med.66(1947)
33-35
- 43.Margolius A.Jr.u.Ratnoff O.D.:Blood 11(1956)565
- 44.Zit.nach Owren P.A.in:Handb.d.ges.Hämatologie 2(1959)500
- 45.Owren P.A.:Triangel Bd.1(1955)No.10
- 46.Owren P.A.:Intern.Soc.of Haematol.3.Intern.Congr.Cambridge 379
(1950)475
- 47.Patek A.J.u.Stetson R.P.:J.clin.Invest.15(1936)531
- 48.Quick A.J.:Amer.J.Med.Sc.214(1947)272
- 49.Quick A.J.u.Epstein E.:J.Applied.Physiol.4(1952)840
- 50.Ramot B.,Singer K.,Heller P.u.Zimmermann H.J.:Blood 11(1956)745
- 51.Rapaport S.I.,Aas K.u.Owren P.A.:J.clin.Invest.34(1955)9
- 52.Rapaport S.I.,Aas K.u.Owren P.A.:Scand.J.clin.and Lab.Invest.6
(1954)82
- 53.Ratnoff O.D.:Blood 11(1956)923
- 54.Ratnoff O.D.u.Colopy J.E.:J.clin.Invest.34(1955)602
- 55.Ratnoff O.D.u.Conley C.L.:Bull.J.Hopkins Hosp.89(1951)245
- 56.Ratnoff O.D.u.Rosenblum J.M.:J.lab.clin.Med.50(1957)941
- 57.Roskam J.:Handb.d.ges.Hämatologie 2(1959)98
- 58.Salmon J.u.Bounameaux Y.:C.R.Soc.Biol.150(1956)2278
- 59.Schäfer K.H.,Fischer K.u.Landbeck G.:Deutsch.med.Wochenschr.83
(1958)695
- 60.Seegers W.H.,Johnson J.F.u.Fell C.:Amer.J.Physiol.176(1954)97
- 61.Seegers W.H.,Mc.Claughry R.I.u.Fahey J.L.:Blood 5(1950)421

- 62.Seligmann M.G.:R.Acad.Sc.244(1957)2197
63.Shafrir E.u.De Vries A.:J.clin.Invest.35(1956)1183
64.Soulier J.P.,Wartelle O.u.Menache D.:Extrait de la Revue Fran-
caise D'Etudes cliniques et Biologiques(1958)Vol.III,Nr.3,263
65.Tocantins L.M.:Am.J.Physiol.143(1945)67
66.Tocantins L.M.:Blood 9(1954)281
67.Tocantins L.M.,Holburn R.R.u.Carroll R.T.:Proc.Soc.Exper.Biol.
Med.76(1951)623
68.Ware A.G.,Fahey J.L.u.Seegers W.H.:Amer.J.Physiol.154(1948)140

Zum Schluß dieser Arbeit möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof.Dr.med.Jürgens für die Überlassung des interessanten Themas, sowie für die vielen Anregungen und Hilfen bedanken, die er mir bei Bearbeitung desselben gab.

L e b e n s l a u f

Am 28. Februar 1932 wurde ich in Breslau geboren. Bis zu meinem fünften Lebensjahre lebte ich bei meiner Mutter in Neiße/Oberschlesien. Dann verzogen wir von dort nach Dresden, wo ich die Volks- und Oberschule besuchte und im Jahre 1954 das Abitur bestand. Mein Immatrikulationsgesuch für die Medizinische Fakultät, das ich unmittelbar danach stellte, wurde abgelehnt, da mein Vater aktiver Offizier gewesen war. Ich schrieb mich daher im gleichen Jahre an der Wirtschaftswissenschaftlichen Fakultät der Humboldt-Universität in Ostberlin ein. Nach einem Semester Studium versuchte ich, mich auf die Medizinische Fakultät umschreiben zu lassen. Das wurde jedoch wieder abgelehnt. Daraufhin verließ ich Ostberlin, kam nach Frankfurt, ergänzte in einer mündlichen und schriftlichen Prüfung am 5.5.1955 mein Ostzonenabitur und immatrikulierte an der Medizinischen Fakultät der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main. An der gleichen Universität legte ich auch am 28.4.1958 das Physikum ab und am 31. Juli 1961 mein Staatsexamen.

Zur Zeit bin ich am Hospital zum Heiligen Geist in Frankfurt am Main als Medizinalpraktikant beschäftigt und habe die Absicht, in allernächster Zeit meine Promotion abzulegen.

Frankfurt am Main, den 5.12.1961

